

イルミナウェビナー  
「RNA-Seqをはじめよう」シリーズ

# 実験デザイン編 これからRNA-Seqを始める方に

寺倉 伸治  
シニアフィールドアプリケーションサイエンティスト  
Jan/31/2018



# イルミナウェビナー 「RNA-Seqをはじめよう」シリーズのご案内



これからRNA-Seqを始める方



絶対に失敗しない  
ライブラリー調製



クラウドを用いた  
簡単クリック情報解析

実験デザイン編

1月31日

- これからRNA-Seqを始める方に、実験デザインをどのように立てたらよいかの案内を行います。

ライブラリー調製編

2月28日

- ワークフローはもちろん、実験を行う上での落とし穴、ライブラリーの評価方法を紹介します。

情報解析編

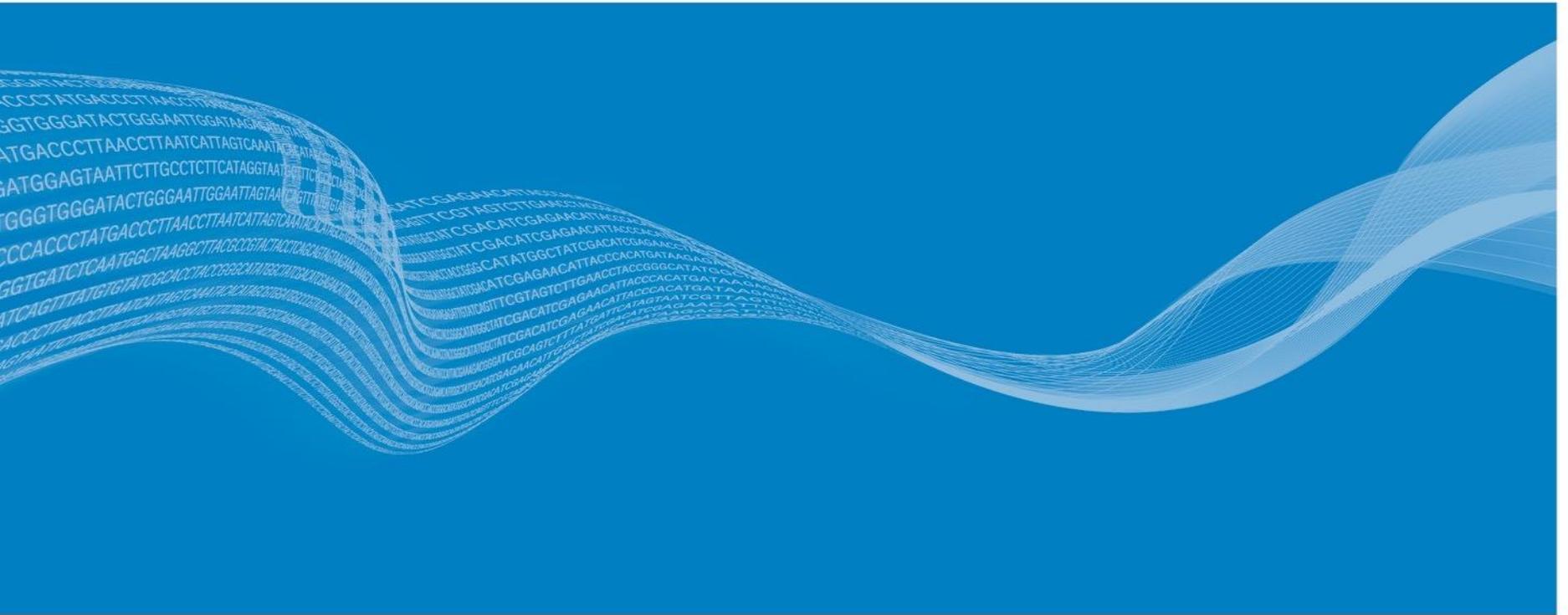
3月末予定

- 解析アプリの実行方法、出力結果の紹介を行います。

# 今回のウェビナーの流れ

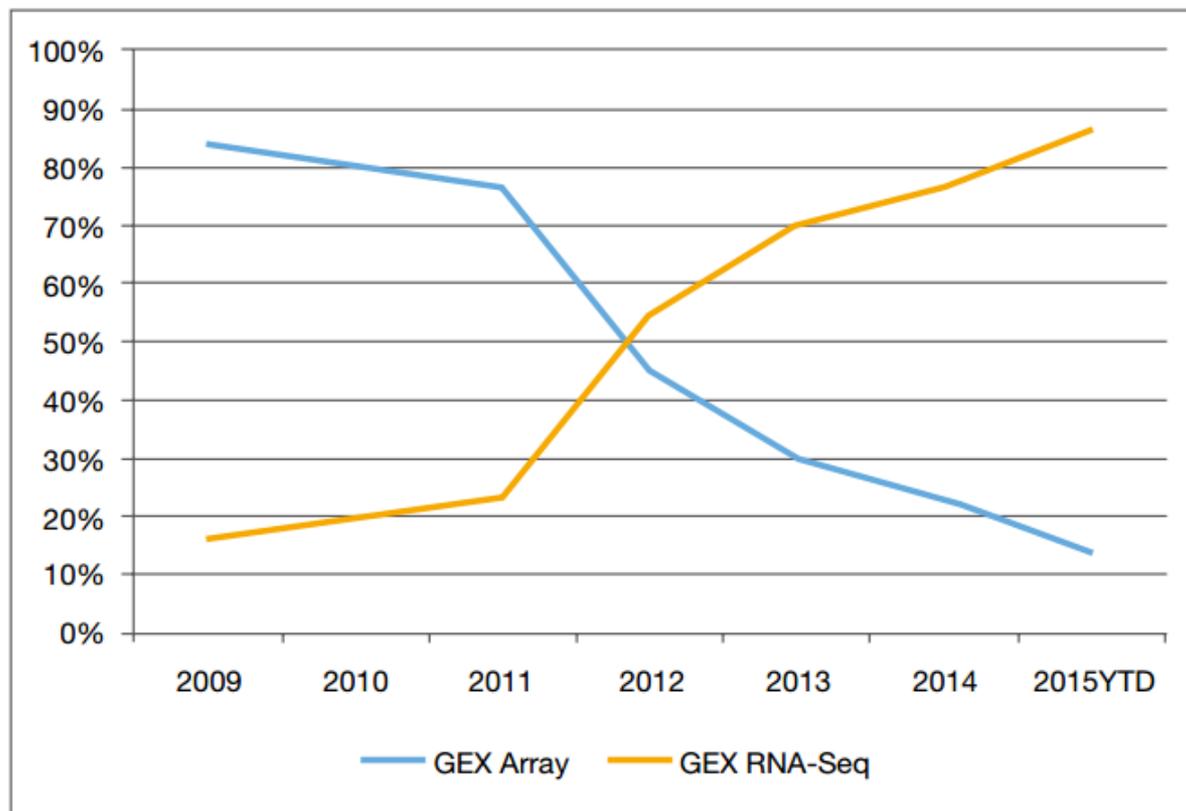
- **RNA-Seq概要**
  - RNA-Seqで何ができるか？わかるか？
- **ワークフローと実験デザイン**
  - どれくらい読めばよいのか？
  - ライブラリー調製キットは？
  - コストは？
- **情報解析についての紹介**
  - BaseSpaceの紹介
- **まとめ**

# RNA-Seqの概要



# 研究トレンドは、マイクロアレイからRNA-Seqへ

遺伝子発現研究に対する NIH 助成金推移：新規分

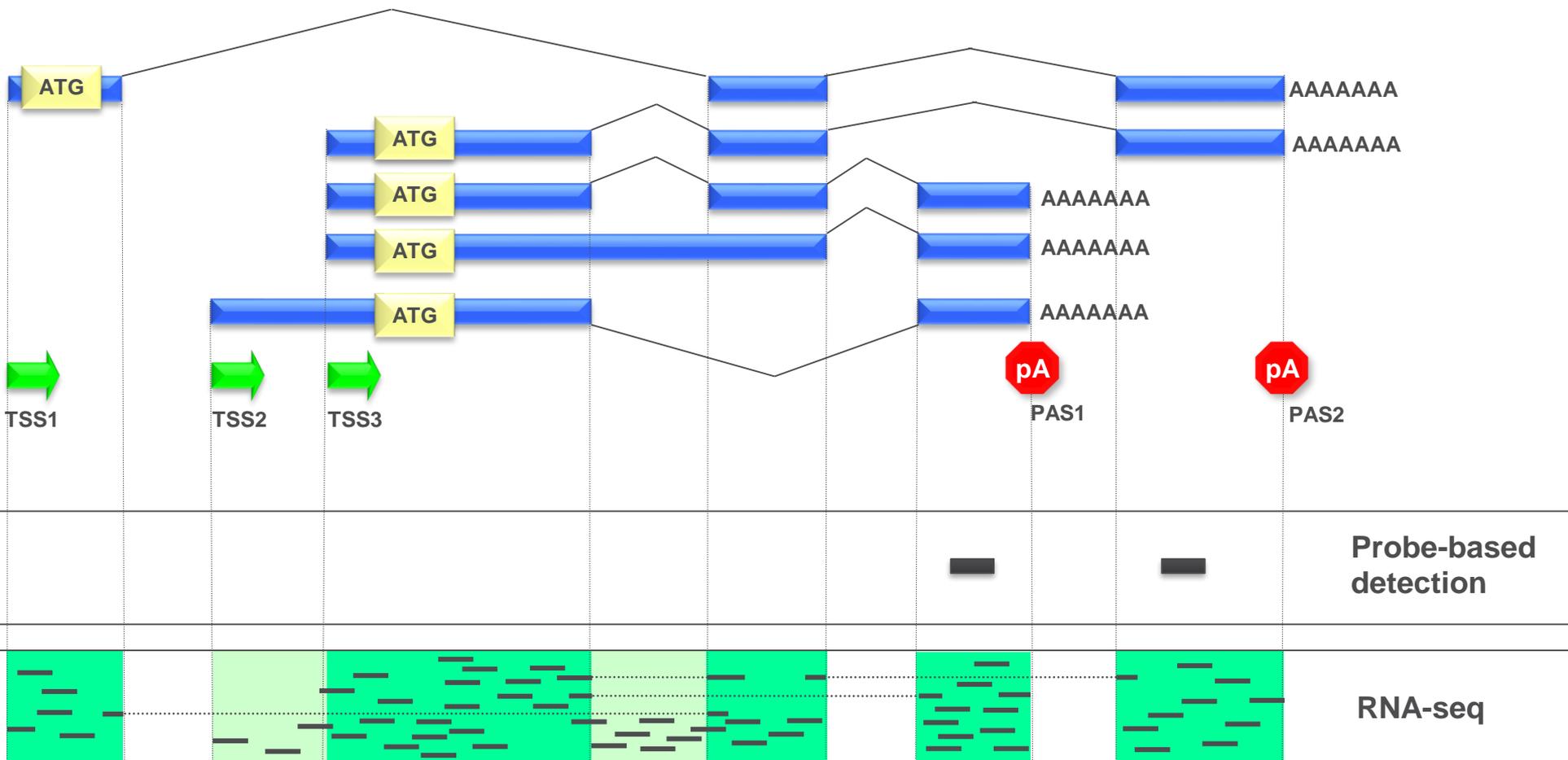


NIH 研究ポートフォリオにおける 2009 年から 2015 年までの遺伝子発現アレイと RNA シーケンスを使用した助成金推移。

2015 年 10 月の NIH プロジェクト報告者データベース検索からのデータ (<http://projectreporter.nih.gov>)。

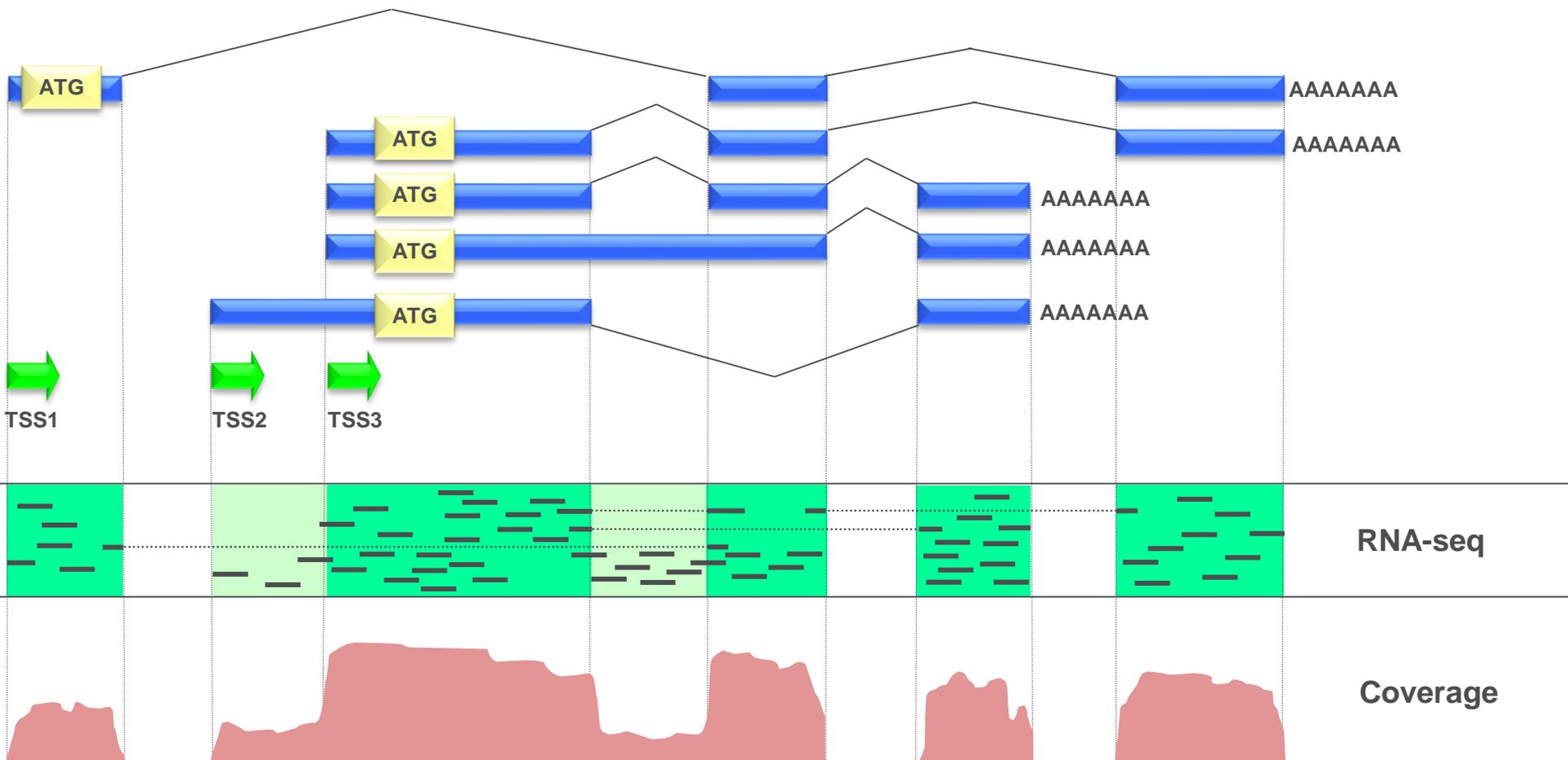
# プローブベース検出のRNA発現解析の限界

プローブは1つのアイソフォームのみの検出



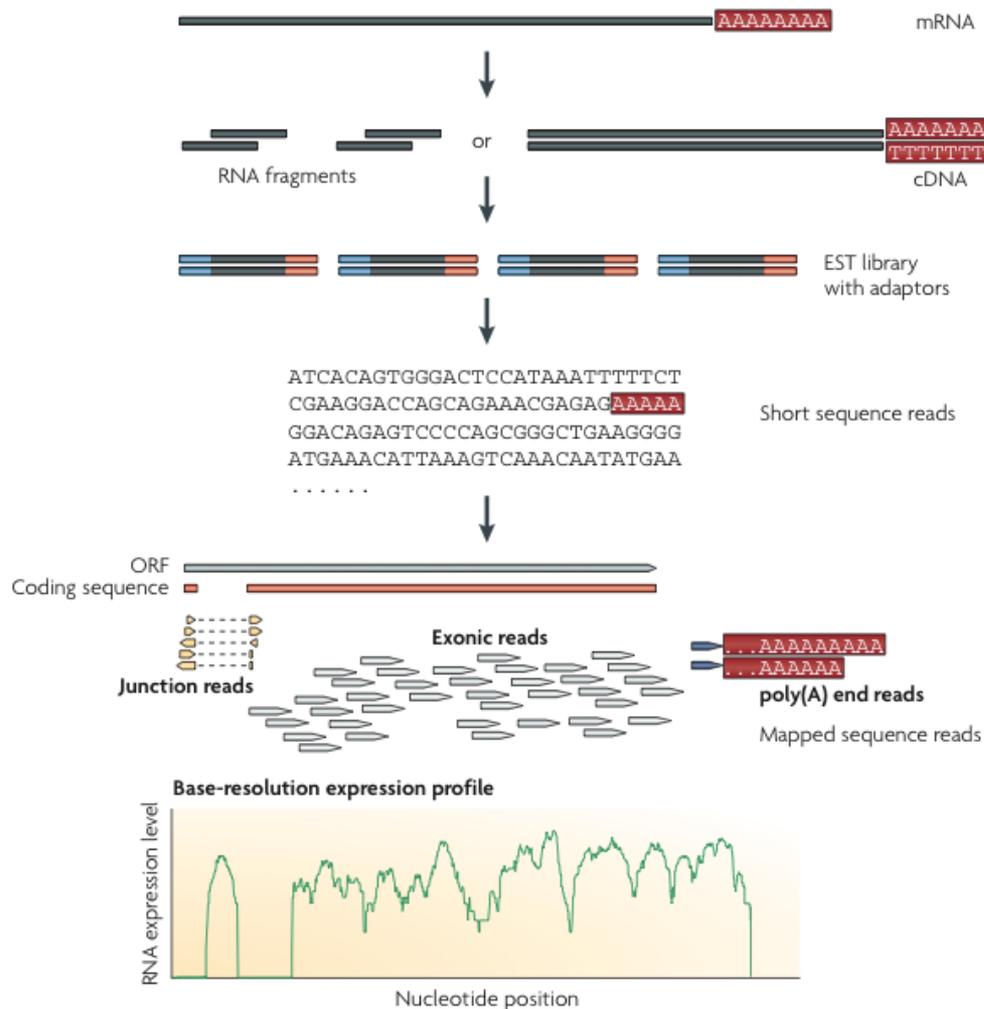
# シーケンサーでのRNAの発現検出

カバレッジを計算して、異なるアイソフォームの発現を検出します



# RNA-Seq解析の概要

リファレンスゲノムがあるヒト、モデル生物等



Oligo(dT)を利用してmRNAを単離

RNAを逆転写してcDNAを作製

アダプタ付きライブラリー作製

シーケンシング

リファレンスゲノムへのアライメント

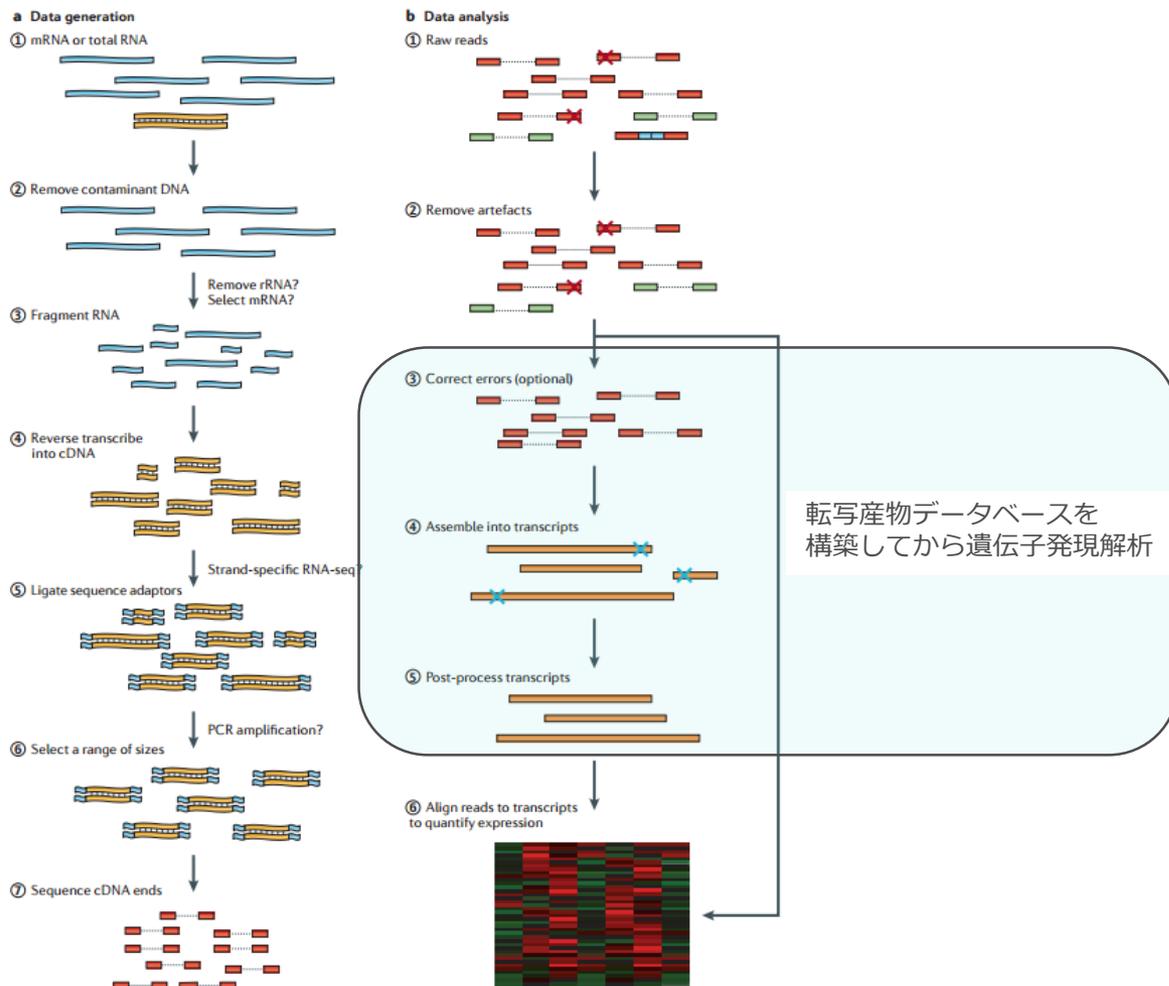
トランスクリプト毎の発現解析が可能

- ・ Alternative Splicing同定
- ・ 新たな転写産物の予測
- ・ SNP解析等

Wang Z, Gerstein M, Snyder M. (2009). "RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics". *Nature Reviews Genetics* 10 (1): 57–63.

# RNA-Seq解析の概要

リファレンスゲノムの無い生物種



Nat Rev Genet. 2011 Sep 7;12(10):671-82. doi: 10.1038/nrg3068.  
Next-generation transcriptome assembly.

Oligo(dT)を利用してmRNAを単離

RNAを逆転写してcDNAを作製

アダプタ付きライブラリー作製

シーケンシング

De novoでアセンブルして

転写産物のモデルを構築

転写産物モデルへアライメント

遺伝子発現解析

- ・ Alternative Splicing同定
- ・ 新たな転写産物の予測など

# トランスクリプトームアセンブル : Trinity

## 画期的なアセンブルツール



- 開発したソフト Trinity が哺乳類に対しても微生物に対しても非常に良い転写産物のアセンブル結果を提供

- 分裂酵母でのテスト結果

- 76塩基ペアエンド解析
- 50 M ペア、100 M リード
- インサートサイズは 225 bp から 425 bp
- 結果: 4338 / 5064、転写産物の約 86% の全長をカバー

- マウスでのテスト結果

- 76塩基ペアエンド解析
- 52.6 M ペア、105.2 M リード
- 結果 10724 遺伝子をカバー (マウス遺伝子の 52%)
- 350塩基以上のコンティグ数 48,497
- 完全長をカバーしているのは 8,185 個

**nature biotechnology** ARTICLES

### Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome

Manfred G Grabherr<sup>1,2</sup>, Brian J Haas<sup>1,3,4</sup>, Moran Yassour<sup>1,3,4</sup>, Joshua Z Levin<sup>1</sup>, Dawn A Thompson<sup>1</sup>, Ido Amit<sup>1</sup>, Xian Adiconis<sup>1</sup>, Lin Fan<sup>1</sup>, Raktima Raychowdhury<sup>1</sup>, Qiangdong Zeng<sup>1</sup>, Zehua Chen<sup>1</sup>, Evan Muehler<sup>1</sup>, Nir Hacohen<sup>1</sup>, Andreas Gnirke<sup>1</sup>, Nicholas Rhind<sup>1</sup>, Federica Di Palma<sup>1</sup>, Bruce W Birren<sup>1</sup>, Chad Nusbaum<sup>1</sup>, Kerstin Lindblad-Toh<sup>1,5</sup>, Nir Friedman<sup>1,6</sup> & Aviv Regev<sup>1,2,7</sup>

Massively parallel sequencing of cDNA has enabled deep and efficient probing of transcriptomes. Current approaches for transcript reconstruction from such data often rely on aligning reads to a reference genome, and are thus unsuitable for samples with a partial or missing reference genome. Here we present the Trinity method for *de novo* assembly of full-length transcripts and evaluate it on samples from fission yeast, mouse and whitefly, whose reference genome is not yet available. By efficiently constructing and analyzing sets of de Bruijn graphs, Trinity fully reconstructs a large fraction of transcripts, including alternatively spliced isoforms and transcripts from recently duplicated genes. Compared with other *de novo* transcriptome assemblers, Trinity recovers more full-length transcripts across a broad range of expression levels, with a sensitivity similar to methods that rely on genome alignments. Our approach provides a unified solution for transcriptome reconstruction in any sample, especially in the absence of a reference genome.

Recent advances in massively parallel cDNA sequencing (RNA-Seq) provide a cost-effective way to obtain large amounts of transcriptomic data from many organisms and tissue types<sup>1,2</sup>. In principle, such data can allow us to identify all expressed transcripts<sup>3,4</sup>, as complete and contiguous mRNA sequences from the transcription start site to the transcription end, for multiple alternatively spliced isoforms. However, reconstruction of all full-length transcripts from short reads with considerable sequencing error rates poses substantial computational challenges<sup>5,6</sup>: (i) some transcripts have low coverage, whereas others are highly expressed; (ii) read coverage may be uneven across the transcript's length, owing to sequencing biases; (iii) reads with sequencing errors derived from a highly expressed transcript may be more abundant than correct reads from a transcript that is not highly expressed; (iv) transcripts encoded by adjacent loci can overlap and thus can be erroneously fused to form a chimeric transcript; (v) data structures need to accommodate multiple transcripts per locus, owing to alternative splicing; and (vi) sequences that are repeated in different genes introduce ambiguity. A successful method should address each challenge, be applicable to both complex mammalian genomes and gene-dense microbial genomes, and be able to reconstruct transcripts of variable sizes, expression levels and protein-coding capacity.

There are two alternative computational strategies for transcriptome reconstruction<sup>7</sup>. Mapping-first approaches<sup>8</sup>, such as Scripture<sup>9</sup> and Cufflinks<sup>10</sup>, first align all the reads to a reference (unannotated) genome and then merge sequences with overlapping alignment, spanning splice junctions with reads and paired ends. Assembly-first (*de novo*) methods, such as ABySS<sup>11</sup>, SOAPdenovo<sup>12</sup> or Oases (E. Birney, European Bioinformatics Institute, personal communication), use the reads to assemble transcripts directly, which can be mapped subsequently to a reference genome, if available. Mapping-first approaches promise, in principle, maximum sensitivity but depend on correct read-to-reference alignment, a task that is complicated by splicing, sequencing errors and the lack or incompleteness of many reference genomes. Conversely, assembly-first approaches do not require any read-reference alignments, important when the genomic sequence is not available, is spliced, highly fragmented or substantially altered, as in cancer cells.

Successful mapping-first methods were developed in the past year<sup>8</sup>, but substantially less progress was made to date in developing effective assembly-first approaches. As the number of reads grows, it is increasingly difficult to determine which reads should be joined into contiguous sequence contigs. An elegant computational solution is provided by the *de Bruijn* graph<sup>13</sup>, the basis for several whole-genome assembly programs<sup>14,15</sup>. In this graph, a node is defined by a sequence of a fixed length *k* nucleotides (a *k*-mer with *k* considerably shorter than the read length), and nodes are connected by edges, if they perfectly overlap by *k* - 1 nucleotides, and the sequence data support this connection. This compact representation allows for enumerating all possible solutions by which linear sequences can be reconstructed given overlaps of *k* - 1.

<sup>1</sup>Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard, Cambridge, Massachusetts, USA. <sup>2</sup>School of Computer Science, Brown University, Providence, Rhode Island, USA. <sup>3</sup>Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA. <sup>4</sup>Department of Biochemistry and Molecular Pharmacology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, USA. <sup>5</sup>Science to Life Laboratory, Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University, Uppsala, Sweden. <sup>6</sup>Maximilian Ruberman Institute of Life Sciences, Hebrew University, Jerusalem, Israel. <sup>7</sup>Howard Hughes Medical Institute, Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA. <sup>8</sup>These authors contributed equally to this work. Correspondence should be addressed to M.G. (grabherr@mit.edu) or A.R. (regev@mit.edu).

Received 3 December 2010; accepted 28 April 2011; published online 15 May 2011; doi:10.1038/nbt.1883

**NATURE BIOTECHNOLOGY** ADVANCE ONLINE PUBLICATION

Grabherr MG, Haas BJ, Yassour M et al. (2011) Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat Biotechnol.* 2011 May 15

# RNA-Seq で可能なこと

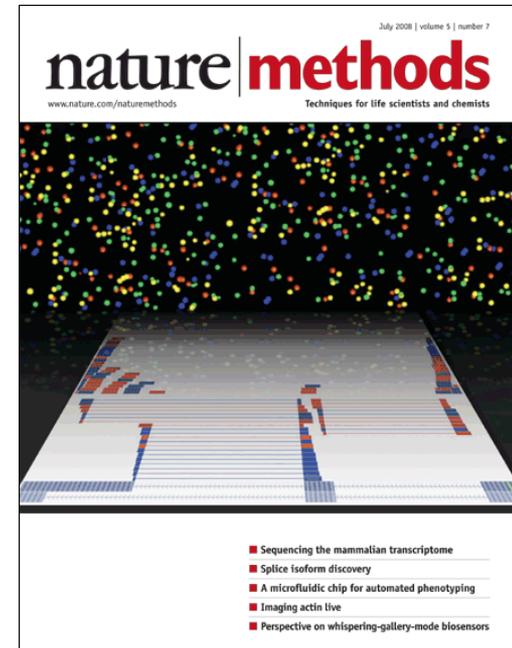
スプライスバリエントごとの発現解析

融合遺伝子の検出

新規と既知の転写産物の同定

ノンコーディングとアンチセンスRNAの把握

超微量インプットからの発現解析



July 2008 - Vol 5 No 7

*Nature Methods* 5 (2008)

The beginning of the end for microarrays?

# RNA-Seq Application

## スプライスバリエントごとの発現プロファイル

- ✓ 各遺伝子の転写産物アイソフォームごとの存在量(1つの遺伝子の複数の存在量)を解析し、遺伝子発現を定量化したい。
- リードをリファレンスにマップし、転写産物の選択的スプライシングを検出
- PEはスプライスを考慮するのに重要

### Review

*Nature Reviews Genetics* 12, 87-98 (February 2011) | doi:10.1038/nrg2934

ARTICLE SERIES: [Applications of next-generation sequencing](#)

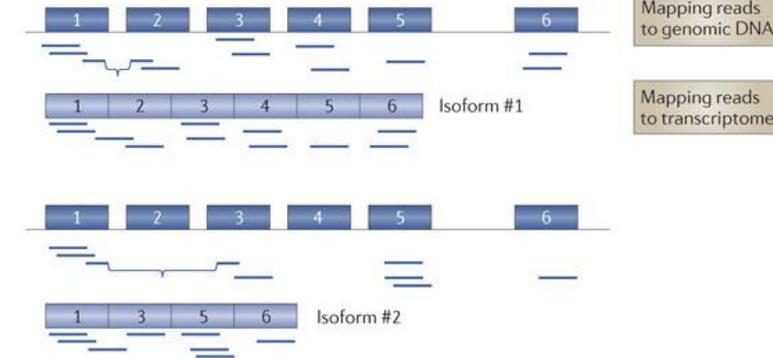
**RNA sequencing: advances, challenges and opportunities**

Fatih Ozsolak<sup>1</sup> & Patrice M. Milos<sup>1</sup> [About the authors](#)

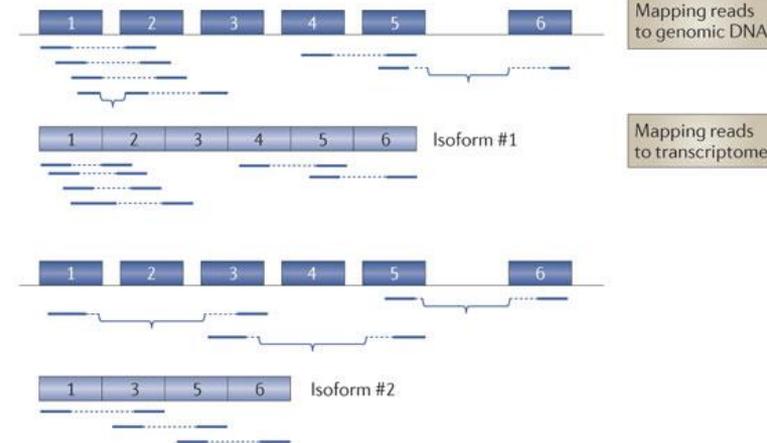
PMID: 21191423

## RNA-seq for detection of alternative splicing events

### a Single reads



### b Paired-end reads



Nature Reviews | Genetics

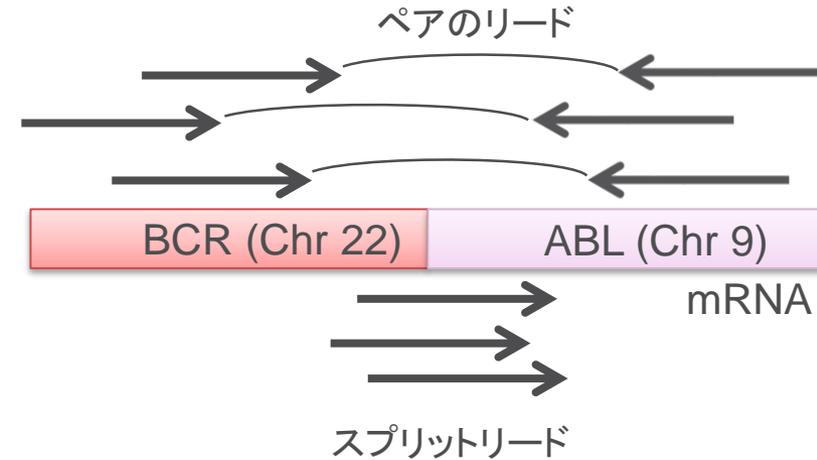
illumina®

# RNA-Seq Application

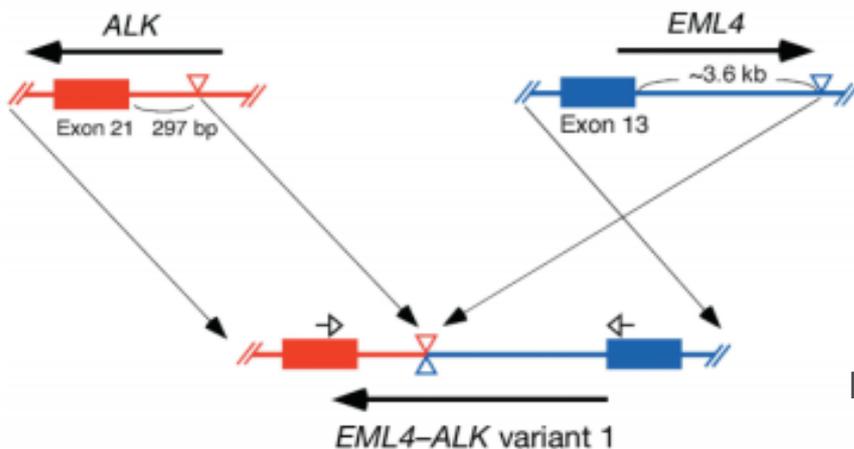
## 融合遺伝子の発現解析

- がん分子標的治療標的として着目
- 定性的および定量的RNA分析が可能
- 融合遺伝子に関する事前の情報不要
- PEは融合遺伝子を検出するのに重要
- 専用のソフトウェアによる処理が必要

ペアリードのアライメント位置が大きく離れている



融合部位のシーケンスリード



## Identification of the transforming *EML4-ALK* fusion gene in non-small-cell lung cancer

Manabu Soda<sup>1,2</sup>, Young Lim Choi<sup>1</sup>, Munehiro Enomoto<sup>1,2</sup>, Shuji Takada<sup>1</sup>, Yoshihiro Yamashita<sup>1</sup>, Shunpei Ishikawa<sup>5</sup>, Shin-ichiro Fujiwara<sup>1</sup>, Hideki Watanabe<sup>1</sup>, Kentaro Kurashina<sup>1</sup>, Hisashi Hatanaka<sup>1</sup>, Masashi Bando<sup>2</sup>, Shoji Ohno<sup>2</sup>, Yuichi Ishikawa<sup>6</sup>, Hiroyuki Aburatani<sup>3,7</sup>, Toshiro Niki<sup>3</sup>, Yasunori Sohara<sup>4</sup>, Yukihiko Sugiyama<sup>2</sup> & Hiroyuki Mano<sup>1,7</sup>

Nature. 2007 Aug 2;448(7153):561-6. Epub 2007 Jul 11.

PMID:17625570 illumina®

# RNA-Seq Application

## 新規と既知の転写産物の同定

- 転写産物の検索と数の推定
- トランスクリプトームをベースとしたアノテーションの改善が可能

BIOINFORMATICS ORIGINAL PAPER

Vol. 25 no. 9 2009, pages 1105–1111  
doi:10.1093/bioinformatics/btp120

Sequence analysis

### TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq

Cole Trapnell<sup>1,\*</sup>, Lior Pachter<sup>2</sup> and Steven L. Salzberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Bioinformatics and Computational Biology, University of Maryland, College Park, MD 20742 and

<sup>2</sup>Department of Mathematics, University of California, Berkeley, CA 94720, USA

Received on October 23, 2008; revised on February 24, 2009; accepted on February 26, 2009

Advance Access publication March 16, 2009

Associate Editor: Ivo Hofacker

PMID: 19289445

nature  
biotechnology

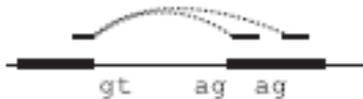
### Cufflinksを紹介した論文

Transcript assembly and quantification by RNA-Seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation

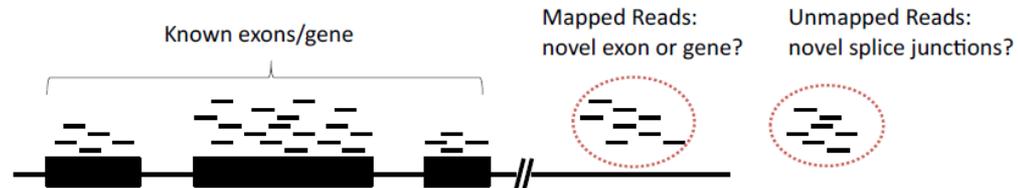
Cole Trapnell<sup>1-3</sup>, Brian A Williams<sup>4</sup>, Geo Pertea<sup>2</sup>, Ali Mortazavi<sup>4</sup>, Gordon Kwan<sup>4</sup>, Marijke J van Baren<sup>5</sup>, Steven L Salzberg<sup>1,2</sup>, Barbara J Wold<sup>4</sup> & Lior Pachter<sup>3,6,7</sup>

PMID: 20436464

exonを考慮してMapするTopHat



nature biotechnology VOLUME 28 NUMBER 5 MAY 2010



# RNA-Seq Application

## ノンコーディング とアンチセンスRNAの把握

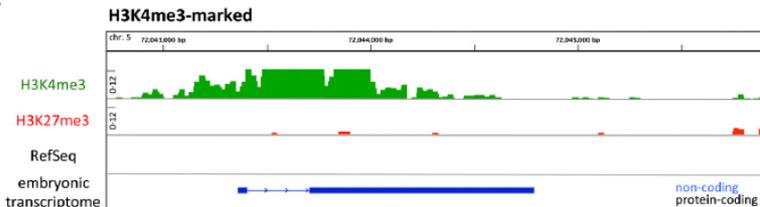
- ▶ 遺伝子の制御は複雑で、階層的である
- ▶ アンチセンスとロングノンコーディング (lncRNA) の発現解析により、トランスクリプトーム全体の遺伝子の制御の詳細を理解できる

### Resource

#### Systematic identification of long noncoding RNAs expressed during zebrafish embryogenesis

Andrea Pauli,<sup>1,7,8</sup> Eivind Valen,<sup>2,7</sup> Michael F. Lin,<sup>3,4</sup> Manuel Garber,<sup>4</sup> Nadine L. Vastenhouw,<sup>1</sup> Joshua Z. Levin,<sup>4</sup> Lin Fan,<sup>4</sup> Albin Sandelin,<sup>2</sup> John L. Rinn,<sup>4,5</sup> Aviv Regev,<sup>3,4,6,8</sup> and Alexander F. Schier<sup>1,4,8</sup>

PMID: 22110045



胚発生過程における1133のlncRNAsを同定  
組織特異的な発現があることを示す

PMID:19188922

nature  
REVIEWS GENETICS

Long non-coding RNAs:  
insights into functions

Tim R. Mercer, Marcel E. Dinger and John S. Mattick

PROGRESS

multigene transcripts that encompass several genes or even the whole chromosome, further confound efforts for systematic classification<sup>23</sup>.

**Widespread functionality of long ncRNAs**  
Given their unexpected abundance, long ncRNAs were initially thought to be spuri-

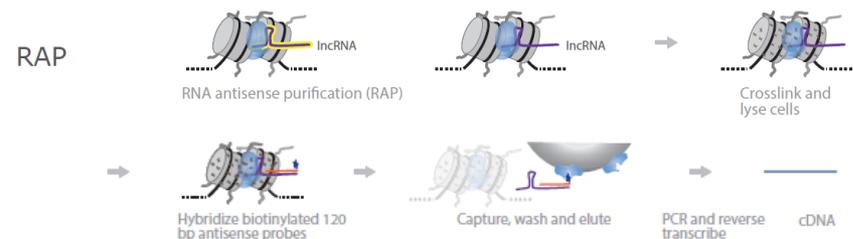
#### The Xist lncRNA Exploits Three-Dimensional Genome Architecture to Spread Across the X Chromosome

Jesse M. Engreitz,<sup>1,2</sup> Amy Pandya-Jones,<sup>3</sup> Patrick McDonel,<sup>1</sup> Alexander Shishkin,<sup>1</sup> Klara Sirokman,<sup>1</sup> Christine Surka,<sup>1</sup> Sabah Kadri,<sup>1</sup> Jeffrey Xing,<sup>1</sup> Alon Goren,<sup>1</sup> Eric S. Lander,<sup>1,4,5\*</sup> Kathrin Plath,<sup>3\*</sup> Mitchell Guttman<sup>1\*†</sup>

PMID: 23828888

#### RNA Antisense Purification (RAP):

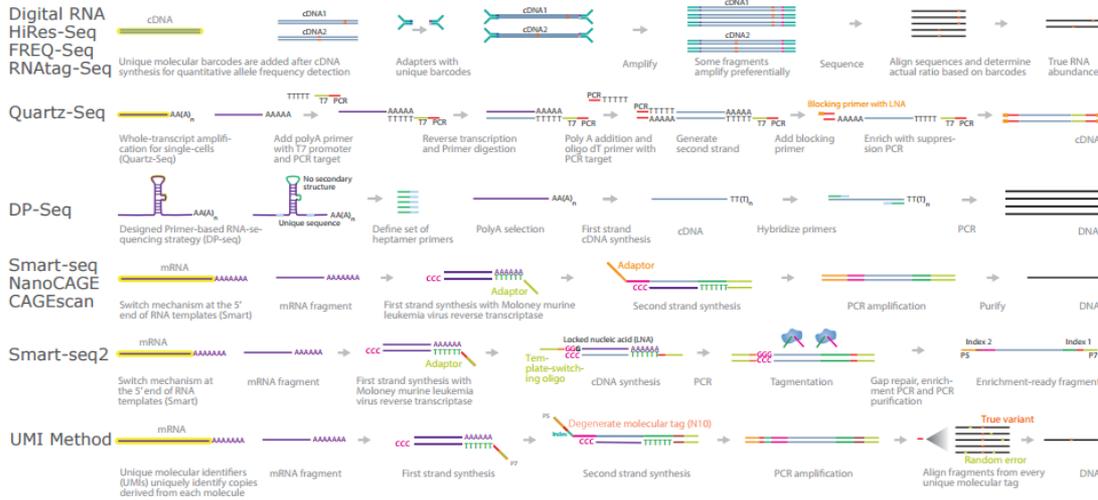
A Method to Map lncRNA Interactions with Chromatin



# RNA-Seq Application

## 超微量インプット とシングルセル

- ▶ 微量な、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションやFACS後などの1-1000の細胞数、もしくは10pg~10ngの高品質な total RNAからのシーケンスが確立している



<http://www.illumina.com/techniques/sequencing/rna-sequencing/ultra-low-input-single-cell-rna-seq.html>

[http://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/apac/japan/documents/pdf/publication\\_single\\_cell.pdf](http://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/apac/japan/documents/pdf/publication_single_cell.pdf)

SCIENTIFIC REPORTS



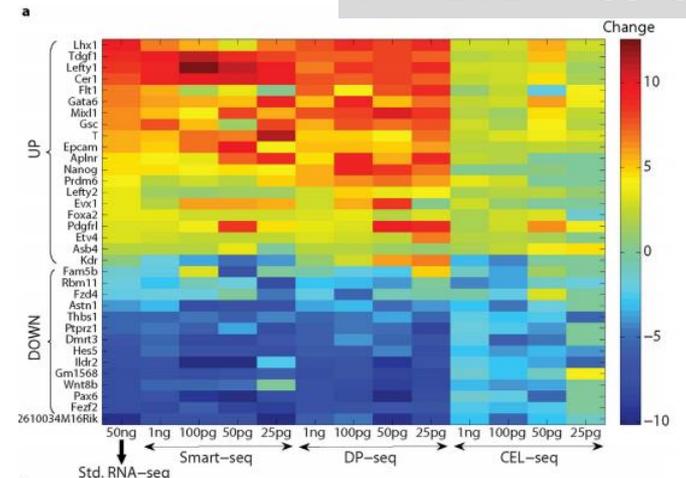
OPEN

## Technical Variations in Low-Input RNA-seq Methodologies

SUBJECT AREAS: TRANSCRIPTOMICS

Vipul Bhargava<sup>1</sup>, Steven R. Head<sup>2</sup>, Phill

: PMID: 24419370



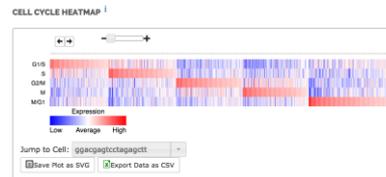
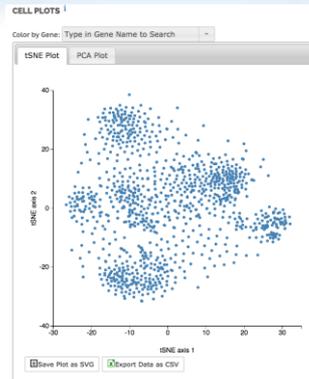
Smart-Seq、DP-Seq、CEL-Seqの比較

illumina®

# Single Cell Transcriptome解析



ddSEQ™ Single-Cell Isolator  
Bio-Rad



SureCell™ WTA 3' Library Prep Kit  
illumina

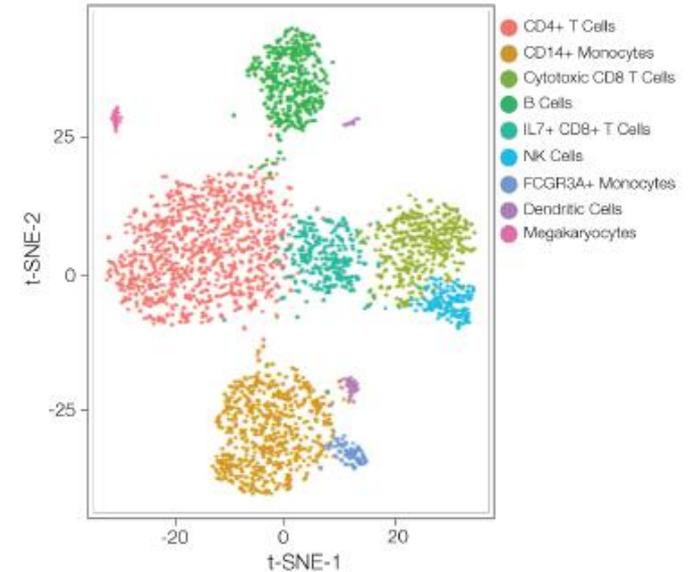
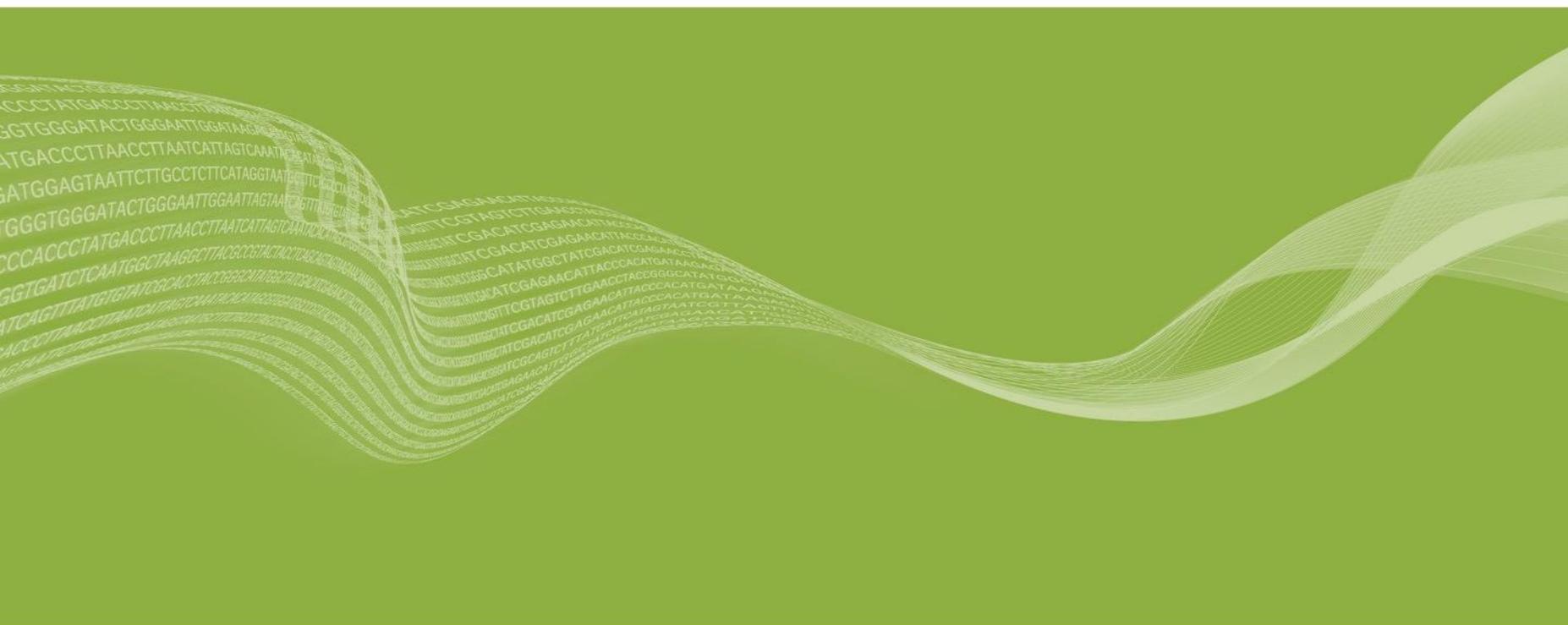


Fig. 2. Unbiased Cluster Analysis of PBMCs in Seurat—Nine cell clusters were identified with 3354 cells down-sampled to approximately 70,000 reads per cell, with a resolution setting of 0.80 and 100 genes as a cut off.

**SureCell の製品HP**

<https://jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/surecell-wta-ddseq.html>

# イリミナ RNA-Seq ワークフロー



# トランスクリプトーム解析ワークフロー



BaseSpace/  
BaseSpace Onsite



TopHat  
Cufflinks



実験デザイン

ライブラリー調製

シーケンス

1次解析

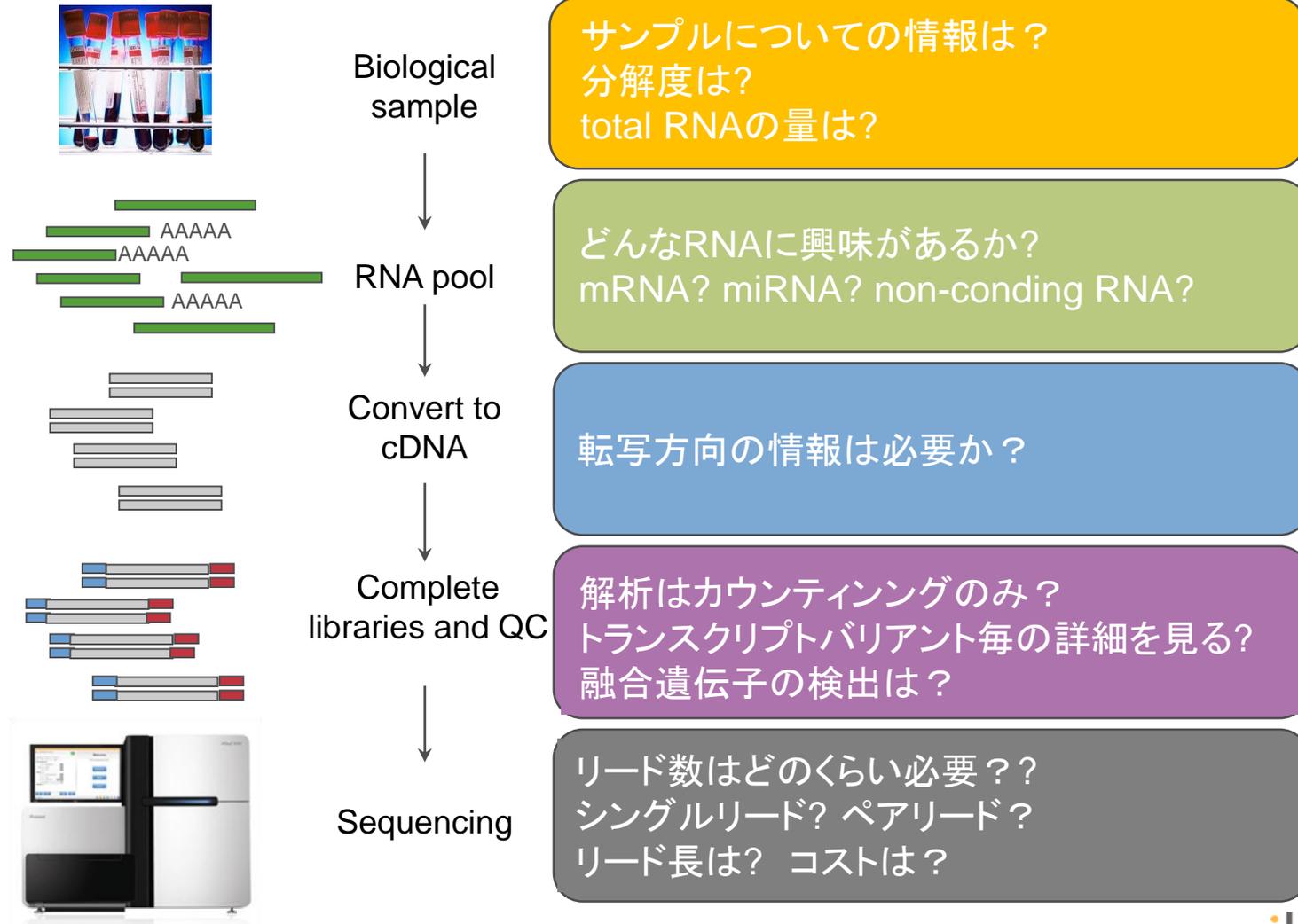
2次解析

3rd パーティー

サンプルから答えまで、一連の工程をサポート

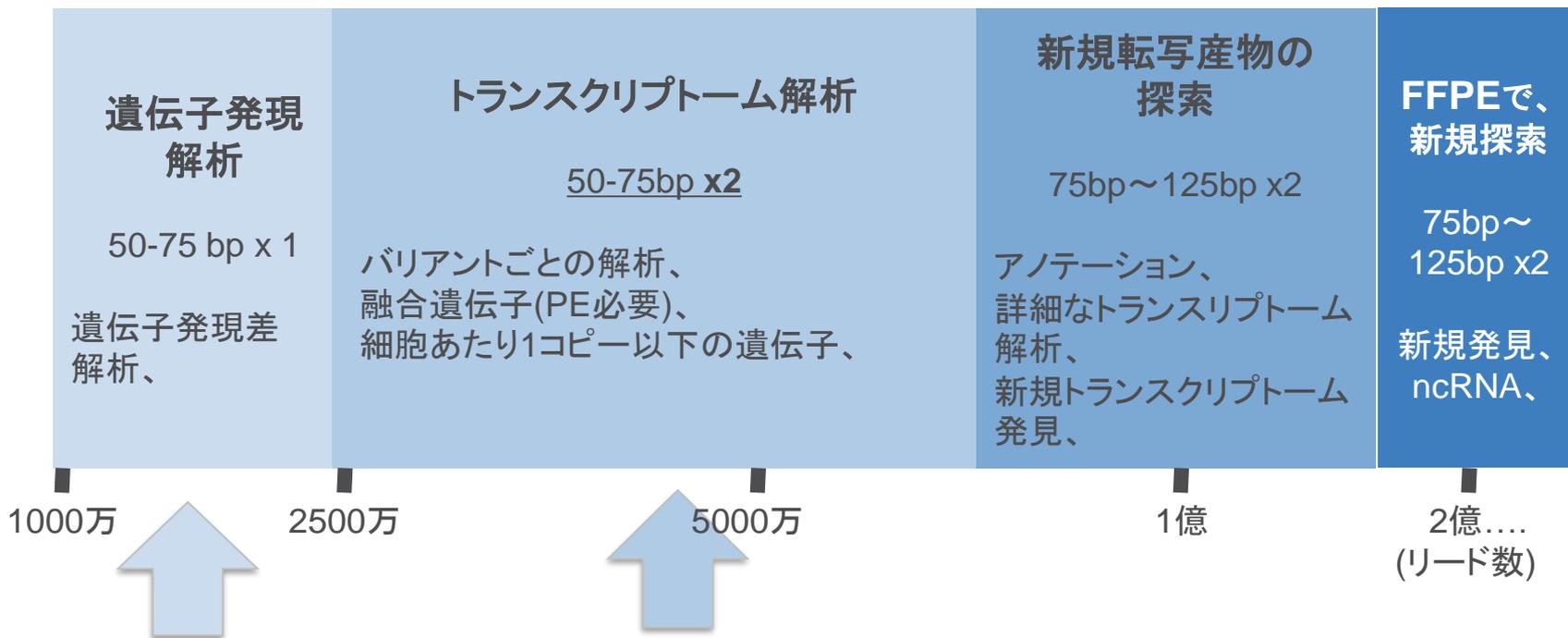
# 実験デザインとRNA-Seqワークフロー

- サンプルからシーケンスまで



# RNA-Seq の目的と実験デザイン (ヒト・マウスの例)

サンプルあたりのコスト:



単純な遺伝子発現解析のみであれば、  
シングルリードで1,000万リード以上

トランスクリプトごとの正確な解析であれば、  
ペアエンドリードで2,500万クラスター以上

Non-coding RNAを対象としたTruSeq Total RNAキットを用いた場合には、読み量はこの目安の2倍となる

# サンプル数、リード数、リード長の参考となる 大規模解析

プロジェクト	Biological replicates	Technical replicates	クラスター数	リード長
ENCODE	同組織/細胞での追加解析を2回以上	発現変動が非常に大きい場合、同RNAサンプルで追加解析	3000万	2x 30 bp以上
MAQCIII	4~5回	-	1億1000万	2 x 100 bp
ABRF	3回	-	3760万	2 x 50 bp

「Biological replicate」は、実験サンプルとなる生物の個体間差などに起因する実験誤差を小さくするために行なう反復実験。同じ集団から複数回サンプリングして標準化する。

「Technical replicate」は、実験操作や装置に起因する誤差を小さくするために行なう反復実験。何回実験をやっても誤差が大きく異なることを示す。

ENCODE Guideline

<https://www.encodeproject.org/about/experiment-guidelines/>

illumina®

# さまざまな生物における遺伝子発現プロファイリング 最少の必要データ量・カバレッジ

生物種	トランスクリプトームサイズ (推定値)	発現解析に推奨する 最少データ量
微生物 (酵母など)	0.8 – 3.0 Mb	12 - 45 万リード
モデル生物 (線虫、キイロシヨウジョウバエ、 シロイヌナズナなど)	10 – 30 Mb	150- 450 万リード
脊椎動物、高等植物、など	30 – 200 Mb	500 – 1500 万リード

- These are general guidelines and good starting points for experimental design.
- Optimization is highly recommended to provide sufficient coverage for the statistical demands of your project

# イルミナシーケンサーのラインナップ



システム	MiniSeq		MiSeq		NextSeq 500		HiSeq 2500		HiSeq 4000
ランモード	中出力	高出力	V2	V3	中出力	高出力	Rapid	高出力	-
最大スループット (Gb)	2.4	7.5	7.5	15	39	120	150	500	750
最大クラスター数	800万	2,500万	1,500万	2,500万	1.3億	4億	3億	20億	25億
ラン時間	4-24時間		4-55時間		12-29時間		7-60時間	1-6日	1-3.5日
最大リード長	2 x 150	2 x 150	2 x 150	2 x 300	2 x 150	2 x 150	2 x 250	2 x 125	2 x 150

(1フローセルあたり)

スループット(bp) ≙ リード長(bp) x クラスター数(リード数)

# mRNA-Seq

## 遺伝子発現解析(シングルリード・1,000万リード)

		MiniSeq	MiSeq	
		High Output	V2	V3
使用する試薬	Cat#:	FC-420-1001	MS-102-2001	MS-102-3001
	製品名	MiniSeq High Output Kit (75 Cycles)	MiSeq Reagent Kit v2 (50 Cycles)	MiSeq Reagent Kit v3 (150 Cycles)
シーケンス条件		1X 76	1X 51	1X 76
試薬コスト		149,000円	148,000円	162,000円
1 Flowcell あたりのクラスター数		2,500万	1,500万	2,500万
解析可能検体数		<b>2検体</b>	<b>1検体</b>	<b>2検体</b>
<b>検体あたりのシーケンスコスト</b>		<b>74,500円</b>	<b>148,000円</b>	<b>81,000円</b>
<b>ライブラリー調製コスト</b>		<b>10,125円</b> (TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kitを使用)		
<b>検体あたりのトータルコスト</b>		<b>84,625円</b>	<b>158,125円</b>	<b>91,125円</b>

\*注: 価格は2017年10月現在の価格です。予告なく変更する場合があります。

# mRNA-Seq

## 遺伝子発現解析(シングルリード・1,000万リード)

		NextSeq 500/550		HiSeq 1500/2500	
		Mid Output	High Output	Rapid Run	High Output (V4試薬)
使用する試薬	Cat#:	FC-404-2001	FC-404-2005	GD-402-4002	GD-401-4001
	製品名	NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2 (150 Cycles)	NextSeq 500/550 High Output Kit v2 (75 Cycles)	FC-402-4022	FC-401-4002
				HiSeq SR Rapid Cluster Kit v2	HiSeq SR Cluster Kit v4-cBot
				HiSeq Rapid SBS Kit v2 (50 Cycles)	HiSeq SBS Kit v4 (50 Cycles)
シーケンス条件	2x 76	1X 76	1X 51	1X 51	
試薬コスト	191,000円	261,000円	266,100円	1,156,000円	
1 Flowcell あたりのクラスター数	1.3億	4億	3億	20億	
解析可能検体数	26検体	40検体	30検体	200検体	
検体あたりのシーケンスコスト	<b>7,347円</b>	<b>6,525円</b>	<b>8,870円</b>	<b>5,780円</b>	
ライブラリー調製コスト	<b>10,125円</b> (TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kitを使用)				
検体あたりのトータルコスト	<b>17,472円</b>	<b>16,650円</b>	<b>18,995円</b>	<b>15,905円</b>	

# mRNA-Seq: トランスクリプトーム解析 (ペアエンドリード・2,500万クラスター)

		NextSeq 500/550		HiSeq 1500/2500	
		Mid Output	High Output	Rapid Run	High Output (V4試薬)
使用する試薬	Cat#:	FC-404-2001	FC-404-2002	PE-402-4002	PE-401-4001
	製品名	NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2 (150 Cycles)	NextSeq 500/550 High Output Kit v2 (150 Cycles)	FC-402-4022	FC-401-4002
				HiSeq PE Rapid Cluster Kit v2	HiSeq PE Cluster Kit v4-cBot
				HiSeq Rapid SBS Kit v2 (50 Cycles) × 3個	HiSeq SBS Kit v4 (50 Cycles) × 3個
シーケンス条件	2x 76	2X 76	2X 76	2X 76	
試薬コスト	191,000円	501,000円	552,300円	2,401,000円	
1 Flowcell あたりのクラスター数	1.3億	4億	3億	20億	
解析可能検体数	5検体	16検体	12検体	80検体	
検体あたりのシーケンスコスト	<b>38,200円</b>	<b>31,313円</b>	<b>46,025円</b>	<b>30,013円</b>	
ライブラリー調製コスト	<b>10,125円</b> (TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kitを使用)				
検体あたりのトータルコスト	<b>48,325円</b>	<b>41,438円</b>	<b>56,150円</b>	<b>40,138円</b>	

# mRNA-Seq: より詳細なトランスクリプトーム解析 (ペアエンドリード・5,000万クラスター)

		NextSeq 500/550		HiSeq 1500/2500	
		Mid Output	High Output	Rapid Run	High Output (V4試薬)
使用する試薬	Cat#:	FC-404-2001	FC-404-2002	PE-402-4002	PE-401-4001
	製品名	NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2 (150 Cycles)	NextSeq 500/550 High Output Kit v2 (150 Cycles)	FC-402-4022	FC-401-4002
				HiSeq PE Rapid Cluster Kit v2	HiSeq PE Cluster Kit v4-cBot
				HiSeq Rapid SBS Kit v2 (50 Cycles) × 3個	HiSeq SBS Kit v4 (50 Cycles) × 3個
シーケンス条件	2x 76	2X 76	2X 76	2X 76	
試薬コスト	191,000円	501,000円	552,300円	2,401,000円	
1 Flowcell あたりのクラスター数	1.3億	4億	3億	20億	
解析可能検体数	2検体	8検体	6検体	40検体	
検体あたりのシーケンスコスト	<b>95,500円</b>	<b>62,625円</b>	<b>92,050円</b>	<b>60,025円</b>	
ライブラリー調製コスト	<b>10,125円</b> (TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kitを使用)				
検体あたりのトータルコスト	<b>105,625円</b>	<b>72,750円</b>	<b>102,175円</b>	<b>70,150円</b>	

# mRNA-Seq: 新規転写産物の探索・さらに詳細な解析 (ペアエンドリード・1億クラスター)

		NextSeq 500/550		HiSeq 1500/2500	
		Mid Output	High Output	Rapid Run	High Output (V4試薬)
使用する試薬	Cat#:	FC-404-2003	FC-404-2004	PE-402-4002	PE-401-4001
	製品名	NextSeq 500/550 Mid Output Kit v2 (300 Cycles)	NextSeq 500/550 High Output Kit v2 (300 Cycles)	FC-402-4021 FC-402-4022	FC-401-4003
				HiSeq PE Rapid Cluster Kit v2	HiSeq PE Cluster Kit v4-cBot
				HiSeq Rapid SBS Kit v2 (200 Cycles) HiSeq Rapid SBS Kit v2 (50 Cycles) 各1個	HiSeq SBS Kit v4 (250 Cycles)
シーケンス条件	2x 126	2X 126	2X 126	2X 126	
試薬コスト	306,000円	801,000円	715,100円	2,401,000円	
1 Flowcell あたりのクラスター数	1.3億	4億	3億	20億	
解析可能検体数	1検体	4検体	3検体	20検体	
<b>検体あたりのシーケンスコスト</b>	<b>306,000円</b>	<b>200,250円</b>	<b>238,367円</b>	<b>2,940,000円</b>	
<b>ライブラリー調製コスト</b>	<b>21,250円</b> (*TruSeq Stranded total RNA Ribo-Zero LT Sample Prep Kitを使用)				
<b>検体あたりのトータルコスト</b>	<b>327,250円</b>	<b>221,500円</b>	<b>259,617円</b>	<b>147,000円</b>	

\*注: 価格は**2017年10月現在**の価格です。予告なく変更する場合があります。

# イルミナの推奨実験デザイン：コスト試算

サンプルあたりのコスト (ライブラリ調製キット+ラン試薬)

最初は、読み量に余裕を持ったデザインをとりましょう

目的	推奨クラスター数	推奨リード長	MiniSeq	MiSeq		NextSeq		HiSeq	
			HO	V2	V3	Mid	High	Rapid Run	HO
			2500万	1500万	2500万	1.3億	4億	3億	20億
発現プロファイル	1000万	1x50 or 1x75	≤2	≤1	≤5	≤26	≤40	≤30	≤200
			¥84,625	¥158,125	¥42,525	¥17,472	¥16,650	¥18,995	¥15,905
トランスクリプトーム解析	2500万	2x75	X	X	≤1	≤5	≤16	≤12	≤80
					¥172,125	¥48,325	¥41,438	¥56,150	¥40,138
詳細なトランスクリプトーム解析	5000万	2x75	X	X	X	≤2	≤8	≤6	≤40
						¥105,625	¥72,750	¥102,175	¥70,150
新規転写産物の探索	1億	2x125	X	X	X	≤1	≤4	≤3	≤20
						¥327,250	¥221,500	¥259,617	¥147,000

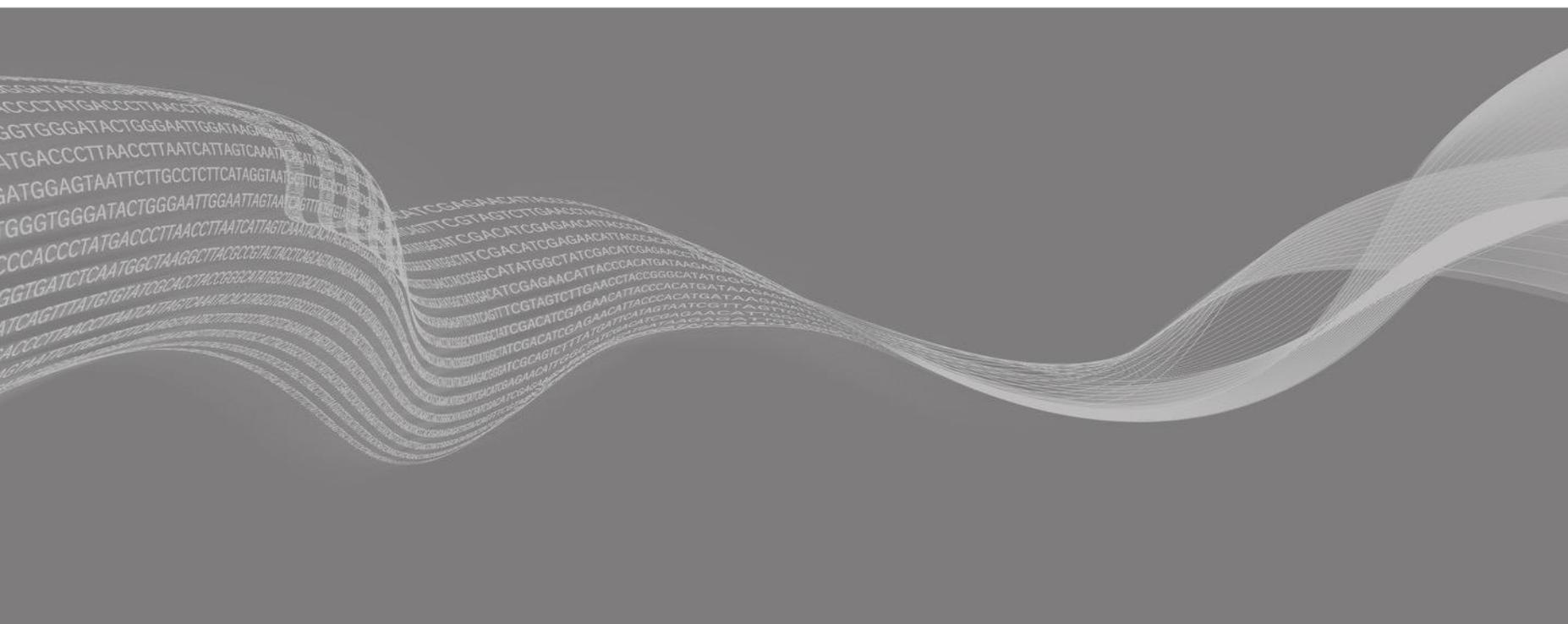
注意1. 価格は2017年10月改訂版の「試薬消耗品価格表」を参考にしています

注意2. サンプル調製キットは下記の場合で計算しております。

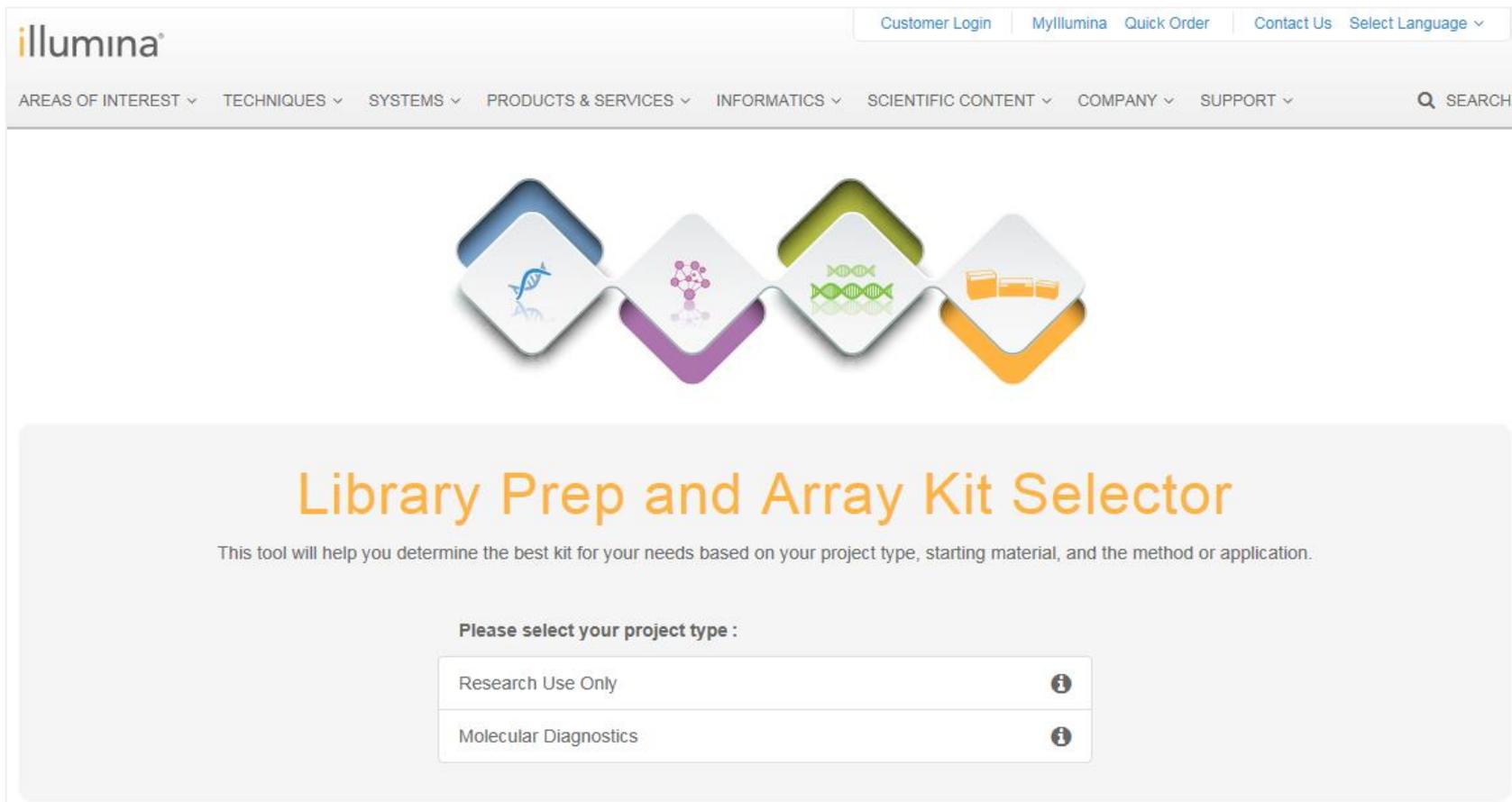
TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kit 48 Samples; ¥ 506,000円 → ¥ 10,542 / サンプル

注意3. TruSeq Total RNA キットを使用の場合は、目安として2倍の読み量が必要です。

# イルミナ ライブラリー調製キット



# ライブラリー調製/アレイ キットセレクター



The screenshot shows the Illumina website's navigation bar with the logo and links for Customer Login, MyIllumina, Quick Order, Contact Us, and Select Language. Below the navigation bar are menu items for AREAS OF INTEREST, TECHNIQUES, SYSTEMS, PRODUCTS & SERVICES, INFORMATICS, SCIENTIFIC CONTENT, COMPANY, and SUPPORT, along with a search icon. The main content area features a decorative graphic of four overlapping diamond shapes containing icons for DNA, a molecular structure, a DNA double helix, and a microarray chip. Below this graphic is the title "Library Prep and Array Kit Selector" in orange text, followed by a subtitle: "This tool will help you determine the best kit for your needs based on your project type, starting material, and the method or application." A form section titled "Please select your project type :" contains two radio button options: "Research Use Only" and "Molecular Diagnostics", each with an information icon.

<http://www.illumina.com/library-prep-array-kit-selector.html>

# ライブラリー調製/アレイ キットセレクター

Research Use Only ⓘ

Starting Material :

DNA

**RNA**

Reset Back

Research Use Only ⓘ

RNA

High Quality

Reset Back

Technique Selection :

**mRNA**

Whole Transcriptome

Targeted

miRNA

Low Input

Ribosomal Profiling

	TruSeq RNA v2	TruSeq Stranded mRNA	TruSeq RNA Access
Intended Use	Simple, cost-effective solution for analysis of the coding transcriptome.	Clearest, most complete view of the coding transcriptome with precise strand information.	Clearest, most complete view of the coding transcriptome with precise strand information and reduced input requirement.
Available for NeoPrep System	No	Yes	No
Input Amount	0.1 – 1ug High Quality Total RNA 10-400ng previously isolated mRNA	NeoPrep: 25-100ng LT/HT: 0.1 – 1ug Total RNA or 10-100ng previously isolated mRNA	10ng High Quality Total RNA 20ng Degraded Total RNA
Hands-on Time <sup>a</sup>	~4.5 hours	NeoPrep: ~30 minutes LT/HT: ~4.5 hours	~11 hours
Assay Time <sup>b</sup>	~10.5 hours	NeoPrep: ~10.5 hours LT/HT: ~10.5 hours	~2 days
FFPE Compatible	No	No	Yes
Capture Method	Oligo dT beads capture poly-A tail	Oligo dT beads capture poly-A tail	Capture probes targeting coding RNA sequence
Capture Content	Coding Transcriptome	Coding Transcriptome	Coding Transcriptome
Stranded	No	Yes	Yes

比較表の表示

# イルミナのRNA-Seq用ライブラリー調製キットの紹介

TruSeq Stranded mRNA Sample Prep Kit

mRNAの解析 RNA-Seqのスタンダード！

TruSeq RNA Access/ TruSight Pan-Cancer Library Prep Kit

ホルマリン固定パラフィン包埋(**FFPE**)組織由来の分解したRNAでも解析可能(対象生物はヒト)。

TruSeq Stranded Total RNA Ribo-Zero H/M/R

TruSeq Stranded Total RNA Ribo-Zero Gold

rRNA(細胞質)を除去し、mRNAとpolyAを持たないRNAを解析。Goldではミトコンドリア由来のrRNAも除去対象。(対象生物はヒト・マウス・ラット)

TruSeq Stranded Total RNA Ribo-Zero Globin

rRNA(細胞質とミトコンドリア)と全血中に高濃度で存在するグロビンmRNAを除去して、RNA解析を行う(対象生物はヒト・マウス・ラット)

TruSeq small RNA Sample Prep Kit

miRNAといったSmall RNA解析

TruSeq Stranded Total RNA RiboZero Plant kit

葉、種、および根の組織から細胞質、ミトコンドリア、および葉緑体のrRNAを除去して、RNA解析を行う。

# TruSeq Stranded mRNA, Total RNA サンプル調製キット特徴

- **ストランド情報を保持**して RNA-Seq 実施可能
- ENCODEプロジェクト, modENCODE でも利用

- mRNA用キット

- PolyA RNAをターゲットにして解析

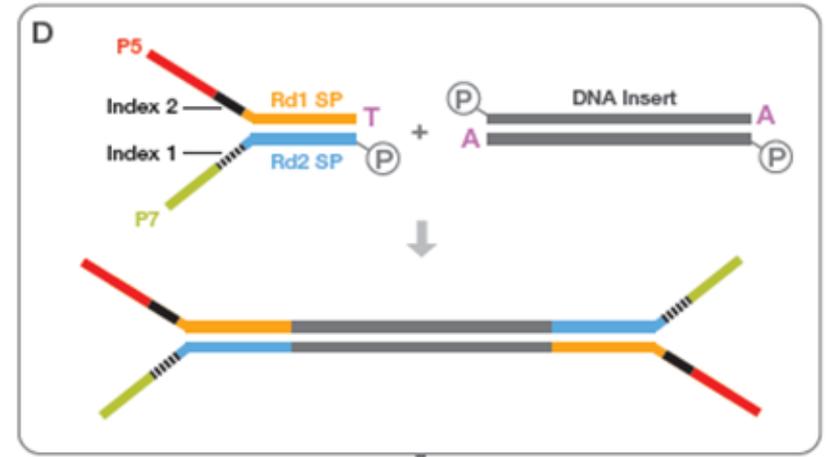
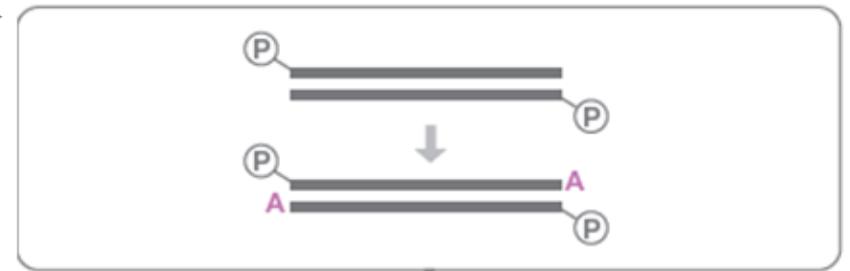
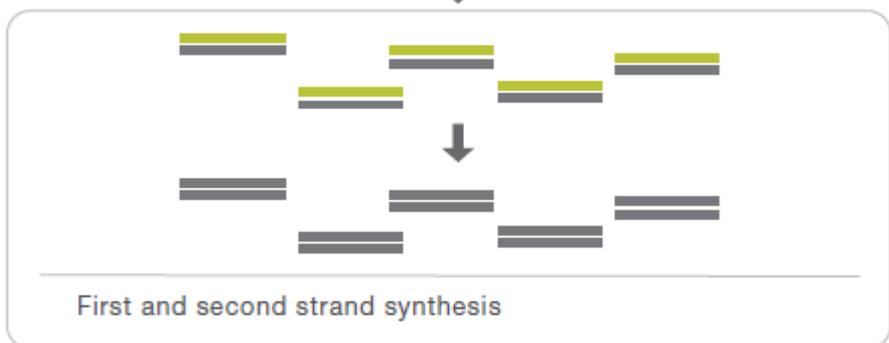
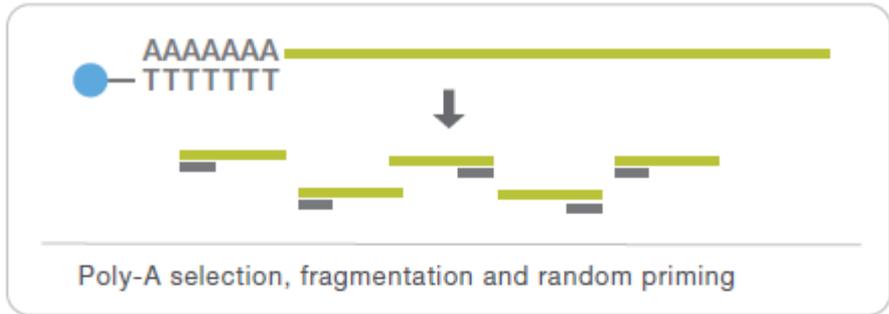
- Total RNA用キット

- **non-coding RNA**解析に利用可能
- TruSeq Stranded Total RNA であれば分解されているRNAもOK
- FFPEサンプルといった分解したRNAにも対応
- リボソーマルRNAを除去する Ribo-Zero試薬もキットに含む

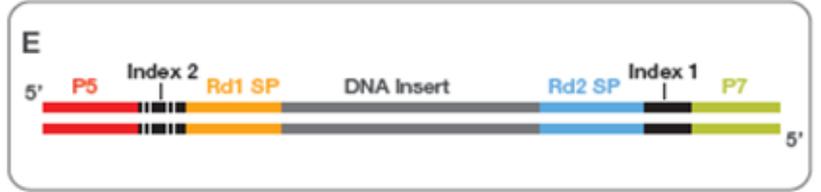
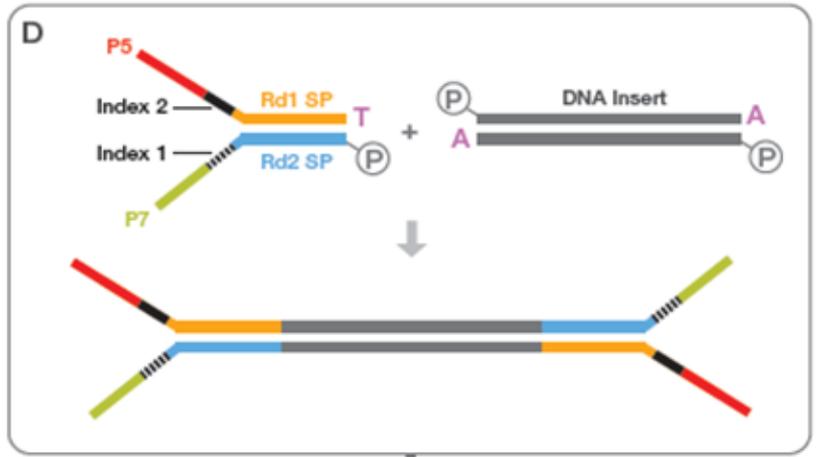
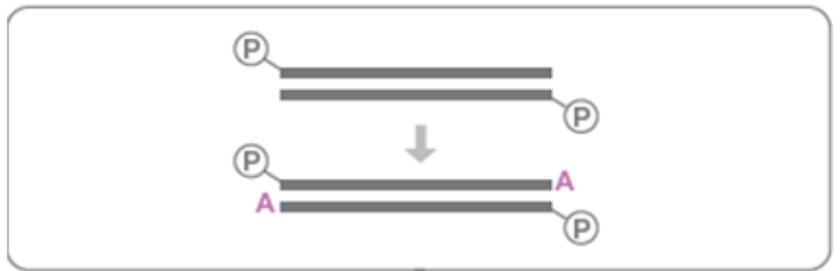
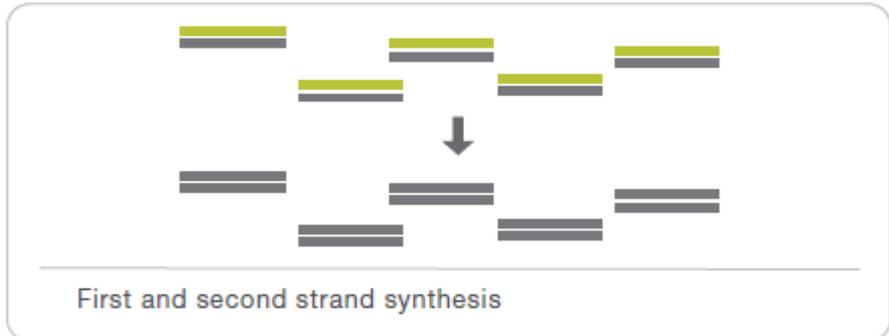
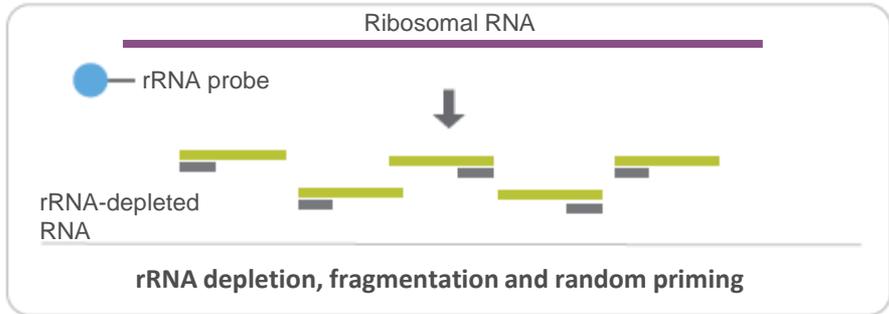
- **Input RNA量: 100 ng ~ 4 µg**



# TruSeq Stranded mRNAワークフロー



# TruSeq Stranded Total RNAワークフロー



# イルミナライブラリー調製キットの価格表 (1)

カタログ番号	製品名	サンプルあたりの価格 (円)	希望販売価格 (円)	備考
RS-122-2101	TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1</sup>	10,125	486,000	12 種類のインデックス付き セット A
RS-122-2102	TruSeq Stranded mRNA LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1</sup>	10,125	486,000	12 種類のインデックス付き セット B
RS-122-2103	TruSeq Stranded mRNA HT Sample Prep Kit (96 Samples)	8,813	846,000	96 種類のインデックス付き
RS-122-2201	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,4</sup>	21,250	1,020,000	12 種類のインデックス付き セット A
RS-122-2202	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,4</sup>	21,250	1,020,000	12 種類のインデックス付き セット B
RS-122-2203	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero HT Sample Prep Kit (96 Samples) <sup>4</sup>	19,375	1,860,000	96 種類のインデックス付き
RS-122-2301	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,5</sup>	21,250	1,020,000	12 種類のインデックス付き セット A
RS-122-2302	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,5</sup>	21,250	1,020,000	12 種類のインデックス付き セット B
RS-122-2303	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold HT Sample Prep Kit (96 Samples) <sup>5</sup>	19,375	1,860,000	96 種類のインデックス付き
<b>small RNA ライブラリー調製キット</b>				
RS-200-0012	TruSeq Small RNA Sample Prep Kit - Set A (24 Samples) <sup>9</sup>	18,375	441,000	12 種類のインデックス付き セット A
RS-200-0024	TruSeq Small RNA Sample Prep Kit - Set B (24 Samples) <sup>9</sup>	18,375	441,000	12 種類のインデックス付き セット B
RS-200-0036	TruSeq Small RNA Sample Prep Kit - Set C (24 Samples) <sup>9</sup>	18,375	441,000	12 種類のインデックス付き セット C
RS-200-0048	TruSeq Small RNA Sample Prep Kit - Set D (24 Samples) <sup>9</sup>	18,375	441,000	12 種類のインデックス付き セット D

こちらは、2017年10月改訂版の「試薬消耗品価格表」を参照しています。

# イルミナライブラリー調製キットの価格表(2)

カタログ番号	製品名	サンプルあたりの価格(円)	希望販売価格(円)	備考
RS-122-2301	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,5</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットA
RS-122-2302	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,5</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットB
RS-122-2303	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Gold HT Sample Prep Kit (96 Samples) <sup>5</sup>	19,375	1,860,000	96種類のインデックス付き
RS-122-2501	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Globin LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,6</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットA
RS-122-2502	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Globin LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,6</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットB
RS-122-2503	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Globin HT Sample Prep Kit (96 Samples) <sup>6</sup>	19,375	1,860,000	96種類のインデックス付き
RS-122-2401	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plant LT Sample Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,7</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットA
RS-122-2402	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plant LT Sample Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,7</sup>	21,250	1,020,000	12種類のインデックス付き セットB
RS-122-2403	TruSeq Stranded Total RNA with Ribo-Zero Plant HT Sample Prep Kit (96 Samples) <sup>7</sup>	19,375	1,860,000	96種類のインデックス付き
RS-301-2001	TruSeq RNA Access Library Prep Kit - Set A (48 Samples) <sup>1,3</sup>	28,125	1,350,000	12種類のインデックス付き セットA
RS-301-2002	TruSeq RNA Access Library Prep Kit - Set B (48 Samples) <sup>1,3</sup>	28,125	1,350,000	12種類のインデックス付き セットB
RS-303-1002	TruSight RNA Pan-Cancer Panel Set A (48 Samples) <sup>1,3</sup>	27,084	1,300,000	12種類のインデックス付き セットA
RS-303-1003	TruSight RNA Pan-Cancer Panel Set B (48 Samples) <sup>1,3</sup>	27,084	1,300,000	12種類のインデックス付き セットB

こちらは、2017年10月改訂版の「試薬消耗品価格表」を参照しています。

# データ解析





# BaseSpace : RNA-Seq解析関連のアプリ

※2018年1月現在

遺伝子の発現解析  
二群間解析  
融合遺伝子検出

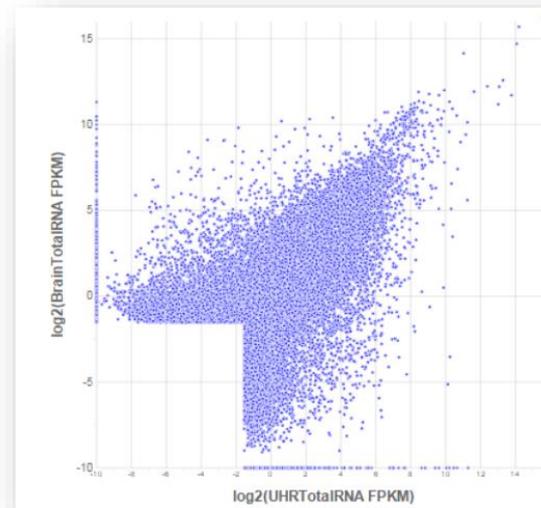


RNA-Seq Alignment

miRNA解析



Small RNA

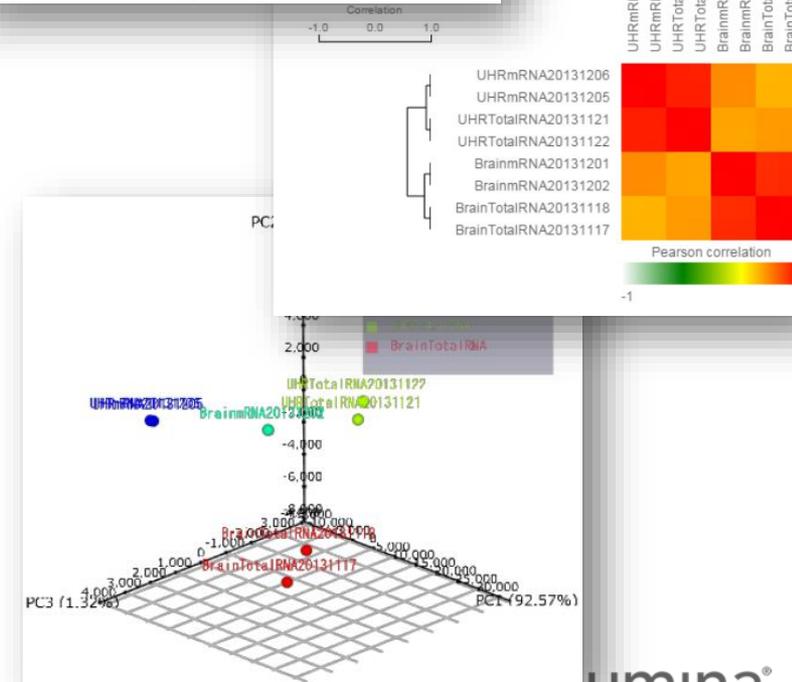


Cufflinks Assembly & DE,  
DESeq2

パネル製品の解析



TruSeq Targeted RNA,  
RNA Amplicon



# クリック操作ですばやく実行



RNA-Seq Alignment v1.1.0

Illumina, Inc.

App Session Name: RNA-Seq Alignment 09/16/2016 3:28:59

Save Results To: Select Project(s):

Samples: Select Sample(s):

Select All	Stranded?	
	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	
BrainmRNA-20131201	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
BrainTotalRNA-20131117	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
UHRRmRNA-20131205	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
BrainTotalRNA-20131118	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
UHRRTotalRNA-20131122	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
BrainmRNA-20131202	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x
UHRRmRNA-20131206	<input type="radio"/> No <input checked="" type="radio"/> First Strand <input type="radio"/> Second Strand	x

① プロジェクト名を選択

② サンプルを選択

③ 実行!



Reference Genome: Homo sapiens (PAR-masked)/hg19 (RefSeq)

Panel: None

## Alignment Options

Aligner: STAR

QC Mode:

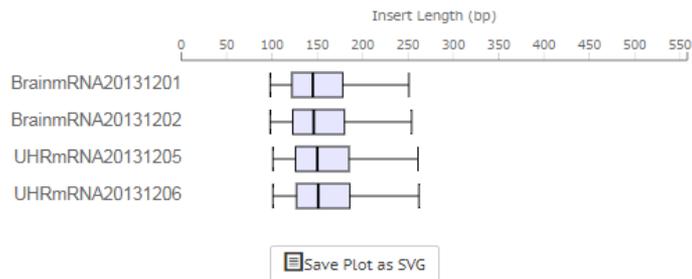
QC Reads (Read Pairs): 100000

Novel Transcript Assembly:

Adjust Transcript Assembly for Samples Without PolyA Selection:

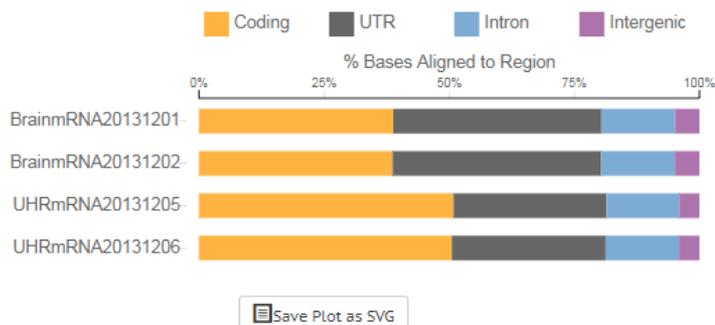
# 解析のQC結果を確認

## INSERT LENGTH DISTRIBUTION <sup>i</sup>



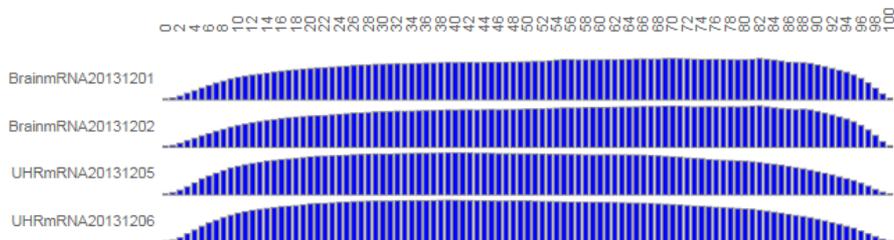
ライブラリーの挿入配列の長さの分布

## ALIGNMENT DISTRIBUTION <sup>i</sup>



Coding, UTR, Intron  
Intergenic 領域へのアライメントの割合

## TRANSCRIPT COVERAGE <sup>i</sup>

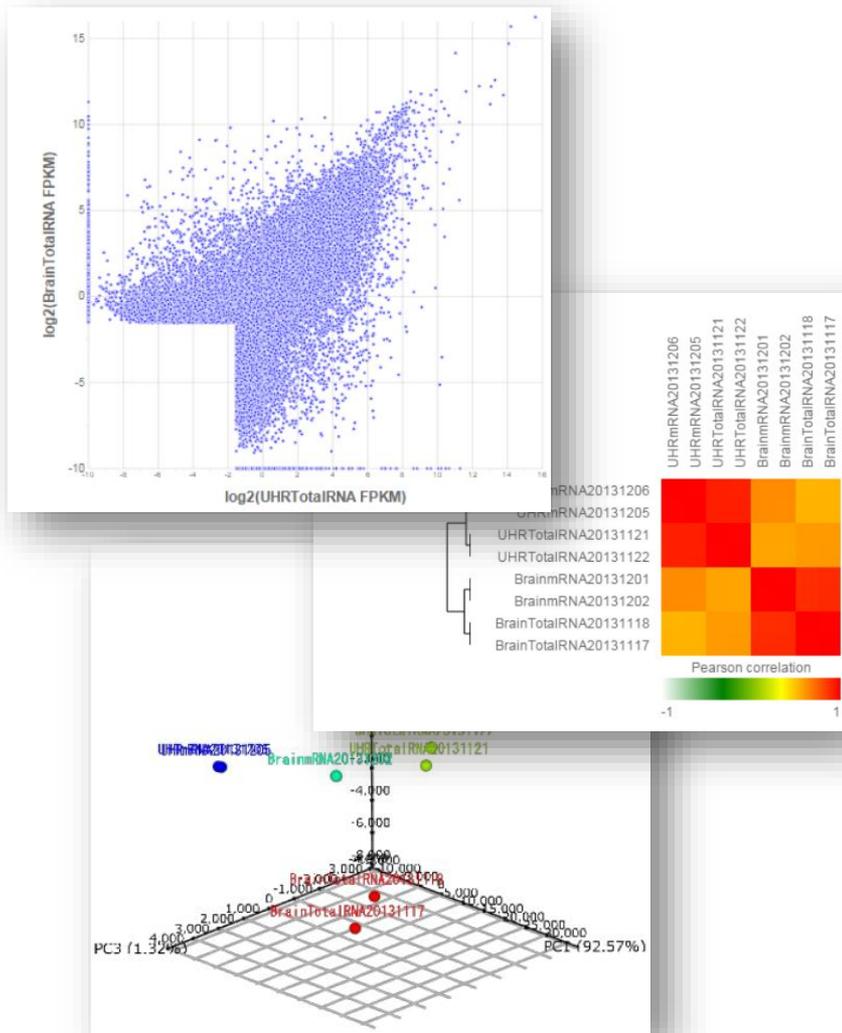


5' > 3'のカバレッジの均一性

# 解析結果の閲覧

ひとつおりの図の作成

結果ファイル



test_id	gene	locus	sample	status	value	log2(FOLD)	test_stat	p_value	q_value	significance	
1	ABP1	ABP1	chr7:1505:control	comparis OK	0.444297	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
4	ACSM2A	ACSM2A	chr16:204:control	comparis OK	0.563457	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
5	ACSM2B	ACSM2B	chr16:205:control	comparis OK	0.841271	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
7	AGXT	AGXT	chr2:2418:control	comparis OK	8.12311	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
9	ALPI	ALPI	chr2:2333:control	comparis OK	0.468968	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
12	AMTN	AMTN	chr4:7138:control	comparis OK	0.460854	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
13	APOA5	APOA5	chr11:116:control	comparis OK	3.45284	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
14	APOC3	APOC3	chr11:116:control	comparis OK	56.79	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
19	AREG	AREG	chr4:7548:control	comparis OK	1.02586	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
20	BHLHE23	BHLHE23	chr20:616:control	comparis OK	0.36004	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
21	CL7orf99	CL7orf99	chr17:761:control	comparis OK	0.53114	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
22	CBA	CBA	chr15:732:control	comparis OK	1.19789	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
23	CALML5	CALML5	chr10:554:control	comparis OK	5.77572	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
26	CDC162P	CDC162P	chr6:1096:control	comparis OK	1.17936	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
29	CDC172	CDC172	chr10:118:control	comparis OK	0.888631	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
32	CDC63	CDC63	chr12:111:control	comparis OK	0.500394	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
34	CCL16	CCL16	chr17:343:control	comparis OK	0.884679	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
35	CCR8	CCR8	chr3:3937:control	comparis OK	0.339466	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
37	CD18	CD18	chr1:1582:control	comparis OK	4.35406	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
38	CD1E	CD1E	chr1:1583:control	comparis OK	3.70371	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes
39	CD3G	CD3G	chr11:118:control	comparis OK	6.5175	0	#NAME?	#NAME?	5.00E-05	8.90E-05	yes

各遺伝子・トランスクリプトの発現量  
二群間解析の結果  
アライメントファイル(BAMファイル形式)  
cSNPの検出結果 (VCFファイル形式)

# まとめ

- **研究目的によって実験デザインは異なる**
  - 発現解析: シングルリード、1,000万リード以上
  - トランスクリプトーム解析: ペアエンド、2,500万クラスター以上
  - コストはHiSeq・NextSeq使用の場合は、発現解析はおよそ2万円、トランスクリプトーム解析は5万円。
  
- **解析対象のRNAの種類(mRNA、polyAを持たないnon-codig RNA、miRNA)によって使用するライブラリー調製キットは異なる。**
  
- **BaseSpaceを用いれば、クラウド環境でクリック作業で情報解析が可能 → サーバーやLinuxのスキルがなくても大丈夫！**

# 過去のウェビナー

<http://jp.illumina.com/events/webinar.html>

- |                 |
|-----------------|
| <b>FEB 2016</b> |
| 19              |

**【イルミナウェビナー】 TruSeq Custom Amplicon Low Inputキットを用いたターゲットリシーケンス - ウェット編 -**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>FEB 2016</b> |
| 15              |

**【イルミナiSchool プロダクト】 少量サンプルからの融合遺伝子検出と発現解析 TruSight **RNA** Pan-Cancer パネル**  
[Less Info -](#)  
イルミナ株式会社 マーケティング本部  
TruSight **RNA** Pan-Cancer の製品概要を説明します。
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>JAN 2016</b> |
| 22              |

**【イルミナウェビナー】 NGSをはじめよう！ - 「Design Studioを用いたプローブデザインの方法と最適化のヒント」**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>JAN 2016</b> |
| 21              |

**【イルミナiSchool プロフェッショナル】 Immunogenomics/immunopharmacogenomics: exploring our immune system**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>DEC 2015</b> |
| 4               |

**【イルミナウェビナー】 イルミナソフトウェアを用いたNGSデータの解析におけるヒント**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>NOV 2015</b> |
| 27              |

**【イルミナiSchool プロフェッショナル】 超高機能構造タンパク質探索に向けたクモ類網羅的トランスクリプトーム解析**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>NOV 2015</b> |
| 20              |

**【イルミナウェビナー】 ターゲットサイトに絞ったカスタムライブラリーのシーケンス**  
[詳細 +](#)
  
- |                 |
|-----------------|
| <b>NOV 2015</b> |
| 17              |

**【イルミナウェビナー】 TruSeq **RNA** Access Library Prepキットを用いたFFPE検体の**RNA**-Seq**  
[詳細 +](#)

# 過去のウェビナー RNA-Seq関連

## イルミナウェビナー

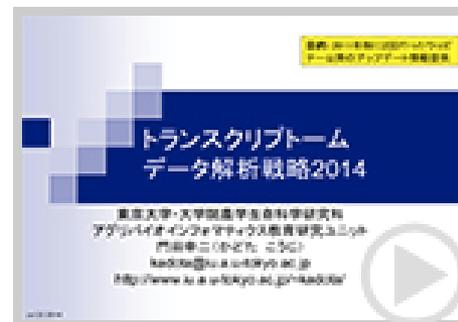
### RNA-Seqシリーズ

「トランスクリプトームデータ解析戦略2014」

東京大学・大学院農学生命科学研究科・

アグリバイオインフォマティクス教育研究ユニット

門田 幸二 先生



2015/11/17 30

### TruSeq RNA Access Library Prepキットを用いたFFPE検体のRNA-Seq 【イルミナiSchool】

TruSeq RNA Access Library Prepキットは、ホルマリン固定パラフィン包埋(F F P E)由来といった断片化したRNA検体に対応し、最少のRNAからRNA-Seq用のライブラリーが調製できるキットです。本キットを用いれば、従来は解析が困難であった断片化したFFPE由来のRNAでも、発現解析や融合遺伝子の検出といった解析が

寺倉 伸治, イルミナ株式会社 アプリケーション コンサルタント

タイプ: シーケンス

2016/03/25 30

### BaseSpaceで達成するSmall RNA発現解析 【イルミナiSchool 中級】

本セッションでは、BaseSpaceに新しく追加されたSmall RNA Appを用いたmiRNAの発現解析と新規miRNA予測解析をご紹介します。ライブラリー調製からこの新しいAppを用いた情報解析までの、miRNA発現解析の一連のワークフローを説明いたします。

寺倉 伸治, イルミナ株式会社 フィールドアプリケーション サイエンティスト

タイプ: シーケンス

# RNAシーケンス入門ガイド

## RNAシーケンスをご検討中の方へ 「次世代シーケンサー入門ガイド」が疑問を解決します。

RNAシーケンスで何ができるのか、どんな準備が必要なのか、どんな点に注意すればよいのかなど、初心者の疑問を分かりやすく解説した次世代シーケンサー入門ガイド「RNAシーケンスを始める前に」が完成しました。

RNAシーケンスの理解を深め、ご自身の研究にお役立てください。

次世代シーケンサー入門ガイド：RNAシーケンスを始める前に

RNAシーケンスの特長	
RNAシーケンスを始める上で考慮すべき3つのポイント	<ul style="list-style-type: none"><li>• アプリケーション</li><li>• 研究デザイン</li><li>• コスト</li></ul>
ライブラリー調製からデータ解析まで3種類のアプリケーションのワークフロー解説	<ul style="list-style-type: none"><li>• 遺伝子発現プロファイリング</li><li>• mRNAシーケンス</li><li>• トータルRNA シーケンス</li></ul>



ページ数：9  
サイズ：250KB  
形式：PDF

[http://jp.illumina.com/landing/rna\\_sequencing\\_introduction\\_j.html](http://jp.illumina.com/landing/rna_sequencing_introduction_j.html)

# イルミナウェビナー 「RNA-Seqをはじめよう」シリーズのご案内



これからRNA-Seqを始める方



絶対に失敗しない  
ライブラリー調製



クラウドを用いた  
簡単クリック情報解析

実験デザイン編

1月31日

- これからRNA-Seqを始める方に、実験デザインをどのように立てたらよいかの案内を行います。

ライブラリー調製編

2月28日

- ワークフローはもちろん、実験を行う上での落とし穴、ライブラリーの評価方法を紹介します。

情報解析編

3月末予定

- 解析アプリの実行方法、出力結果の紹介を行います。

サポートウェビナーにご参加いただき  
ありがとうございました。

本日のセッション終了後のご質問は、  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)  
で承ります。

テクニカルサポート直通のフリーダイヤルも  
ご利用くださいませ。

[0800-111-5011](tel:0800-111-5011)